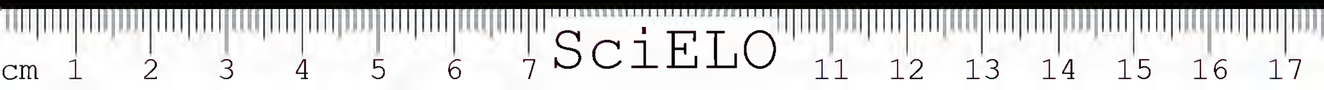
ISSN 0073 - 9901
MIBUAH



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA
INSTITUTO BUTANTAN
SÃO PAULO, SP — BRASIL

Memórias do Instituto Butantan

VOLUME 50 NÚMERO 3, 1988



As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" têm por finalidade a apresentação de trabalhos originais que contribuam para o progresso nos campos das Ciências Biológicas, Médicas e Químicas, elaborados por especialistas nacionais e estrangeiros.

São publicadas sob a orientação da Comissão Editorial, sendo que os conceitos emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

The "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" are the vehicle of communication for original papers written by national and foreign specialists who contribute to the progress of Biological, Medical and Chemical Sciences.

They are published under the direction of the Editorial Board which assumes no responsibility for statements and opinions advanced by contributors.

Indexado/Indexed: Biosis Data Base, Chemical Abstract, Current Contents, Index Medicus.

Periodicidade: irregular
Permuta/Exchange: são feitas entre entidades governamentais, com publicações congêneres, mediante consulta prévia. Exchanges with similar publications can be settled with academic and governmental institutions through prior mutual agreement.

Endereço/Address. Instituto Butantan — Biblioteca. Av. Vital Brasil, 1.500
05504 — São Paulo, SP — Brasil
Telefone/Telephone: (011) 813-7222 — R. 129 — Telex: (011) 83325 BUTA-BR

Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Estado da Saúde
Coordenação dos Institutos de Pesquisa
Instituto Butantan — São Paulo — SP — Brasil

MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN

Volume 50, número 3, 1988

São Paulo, SP — Brasil
1988

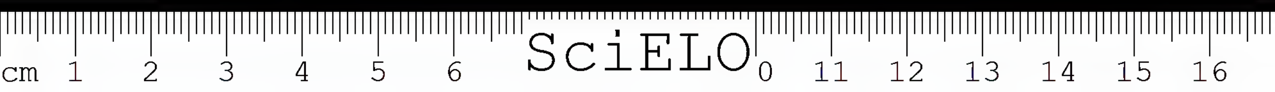


MEMÓRIAS do INSTITUTO BUTANTAN. (Secretaria de Estado da Saúde)
São Paulo, SP — Brasil, 1918 —

1918 — 1983/84, **1-47/48**
Publicação interrompida de 1985 a 1986.
1987, **49** (1-3)
1988, **50** (1-3)

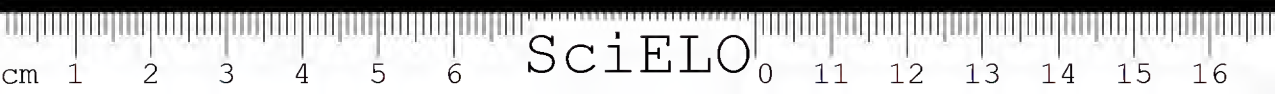
ISSN 0073-9901
MIBUAH
CDD 614.07205

Solicita-se permuta / Exchange desired



Mem. Inst. Butantan
50 (3), 1988

SUMÁRIO/CONTENTS


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 0 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
50(3):63-69, 1988

ZEFERINELLA VAZI N.G.N.SP. (PLAGIORCHIIDAE), PARASITO DA CAVIDADE BUCAL E ESÔFAGO DE *ERYTHROLAMPRUS AESCULAPII* (SERPENTES, COLUBRIDAE)

Paulo de Toledo *ARTIGAS**
Rosangela Clara *PAULINO***

RESUMO: Descreve-se neste trabalho um novo dístomo digenético: *Zeferinella vazi* n.g.n.sp. Esta nova espécie zoológica deve se situar na ordem PLAGIORCHIIFORMES Caballero & Ungria, 1958, superfamília PLAGIORCHOIDEA Dollfuss, 1929. Possivelmente, este novo gênero, presentemente com uma única espécie, dê origem a uma nova subfamília de PLAGIORCHIIDAE Ward, 1917.
PALAVRAS-CHAVE: Trematoda, Plagiorchidae, Serpentes, Colubridae.

INTRODUÇÃO

Fazendo a necropsia, com finalidade parasitológica, de um exemplar de *Erythrolamprus aesculapii* (L.)[1], tivemos o ensejo de recolher, da boca e do esôfago, seis exemplares de um dístomo que, por suas características morfológicas, não se enquadra entre as várias espécies de dístomas já descritas como parasitas daquelas localizações em ofídios.

Assinalamos, desde logo, a raridade desta espécie de verme: é o primeiro lote encontrado nas pesquisas que, há alguns anos, vêm sendo levadas a efeito no Departamento de Parasitologia do ICB — USP, em que mais de 4.000 serpentes, de diferentes famílias, gêneros e espécies, já foram examinadas, com a finalidade de verificação de seu parasitismo por helmintos.

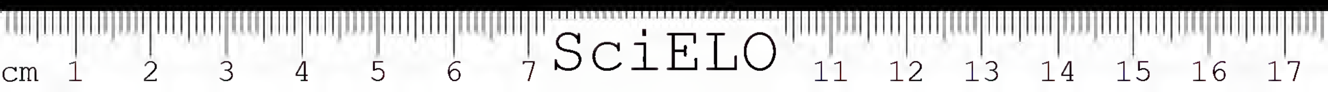
MATERIAL E MÉTODOS

Os vermes colhidos foram fixados em formol de Railliet & Henry, ligeiramente comprimidos entre duas lâminas de vidro, seguras por um elástico delgado.

O exame microscópico dos seis exemplares encontrados foi feito antes e após a coloração pelo carmim clorídrico.

---

* Prof. Catedrático do Departamento de Parasitologia do ICB da USP.
** Estagiária do LEZEP/Instituto Butantan — Bolsista da FUNDAP.



ARTIGAS, P. de T & PAULINO, R.C. **Zeferinella vazi** n.g.n.sp. (Plagiorchiidae), parasito da cavidade bucal e esôfago de **Erythrolamprus aesculapii** (Serpentes, Colubridae). **Mem Inst. Butantan,** 50(3):63-69, 1988,

Os desenhos apresentados (Figs. 1 a 6) foram feitos com o auxílio de câmara clara e serviram, também, para as medidas constantes nesta publicação (Tabela I).

DESCRIÇÃO

Trata-se de dístomas de pequeno tamanho, de contorno regular, alongados, não apresentando espinhos no tegumento. Ventosa oral ligeiramente maior que o acetábulo; aquela situada na extremidade anterior e este, aproximadamente, na união do terço anterior com o terço médio do corpo.

Aparelho digestivo: Abertura oral localizada na ventosa oral: préfaringe ausente, faringe musculosa e bem desenvolvida; esôfago longo e dando origem aos cecos que se prolongam desde a zona média do terço anterior até, aproximadamente, a zona de união do terço médio com o terço posterior do corpo.

Genitália masculina: Testículos de contorno liso e arredondado; dispõem-se em situação ligeiramente oblíqua; localização na zona posterior do terço médio do corpo. Bolsa do cirro bem desenvolvida e abrindo, juntamente com o metratermo, no poro genital situado na zona imediatamente pré-acetabular.

Genitália feminina: Útero muito desenvolvido, com grande número de ovos. As alças uterinas ocupam toda a região do corpo compreendida entre a zona de localização dos testículos e a extremidade posterior; a porção terminal do útero, formada por alças ascendentes, se prolonga até atingir o poro genital, passando entre os dois testículos. Vitelinos formados por numerosos folículos; são de situação extracecal e se estendem desde a zona imediatamente pré-acetabular até a zona em que se localiza o testículo posterior. O ovário, arredondado, é de localização póstero-lateral em relação

TABELA 1
MEDIDAS EM MILÍMETROS, DE 6 EXEMPLARES E OVOS DE
Zeferinella vazi

Exemplar n.º	Comprimento	Largura máxima	Ventosa* oral	Faringe	Esôfago	Ventosa* acetabular	Distância entre as ventosas	Ovário	Testículo* anterior	Testículo* posterior	Ovos:
1	5,754	1,646	0,477 x 0,538	0,185	0,646	0,354 x 0,369	1,538	0,277	0,369 x 0,477	0,462 x 0,477	0,0418 x 0,0234
2	6,328	1,746	0,537 x 0,537	0,209	0,731	0,328 x 0,328	1,806	0,298	0,343 x 0,463	0,373 x 0,552	0,0442 x 0,0250
3	7,209	1,522	0,552 x 0,522	0,194	0,896	0,403 x 0,373	2,194	0,269	0,478 x 0,448	0,478 x 0,448	0,0442 x 0,0240
4	5,892	1,508	0,569 x 0,569	0,215	0,538	0,385 x 0,385	1,492	0,292	0,400 x 0,477	0,431 x 0,538	0,0438 x 0,0232
5	5,478	1,657	0,522 x 0,463	0,194	0,492	0,313 x 0,328	1,418	0,254	0,403 x 0,448	0,478 x 0,463	0,0410 x 0,0216
6	6,923	1,646	0,538 x 0,508	0,215	0,877	0,385 x 0,369	1,969	0,292	0,415 x 0,508	0,385 x 0,492	0,0476 x 0,0224

* comprimento x largura
: média da medida de 5 ovos

ao acetábulo; vesícula seminal presente e de pequeno tamanho. Canal de Laurer não foi observado.

Ovos abundantes, de pequeno tamanho, sem miracídio; apresentam opérculo e são de casca delgada.

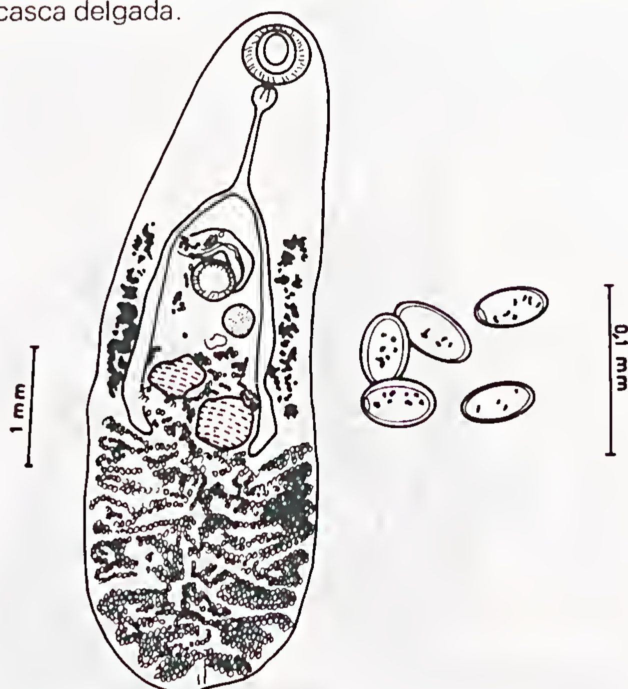


Fig. 1 — *Zeferinella vazi* (exemplar n.º 1) — adulto e ovos.

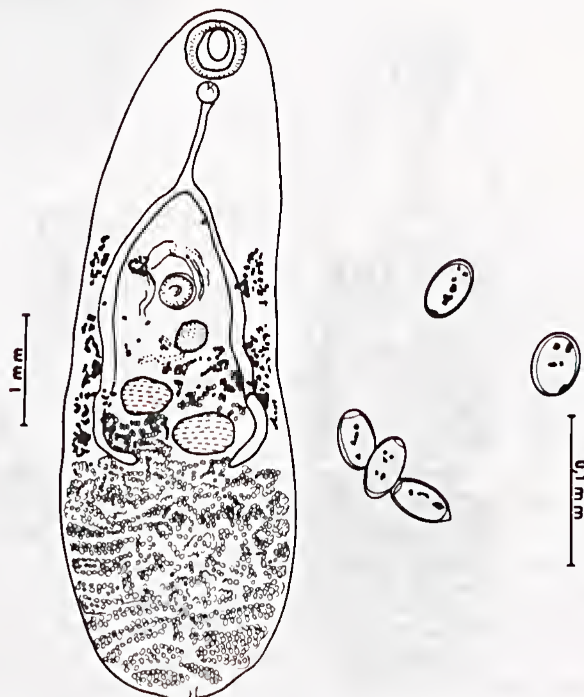


Fig. 2 — *Zeferinella vazi* (exemplar n.º 2) — adulto e ovos.

ARTIGAS, P. de T. & Paulino, R.C. **Zeferinella vazi** n.g.n.sp. (Plagiorchiidae), parasito da cavidade bucal e esôfato de **Erythrolamprus aesculapii** (Serpentes, Colubridae). **Mem. Inst. Butantan,** 50(3): 63-69, 1988.



Fig. 3 — *Zeferinella vazi* (exemplar n.° 3) — adulto e ovos.

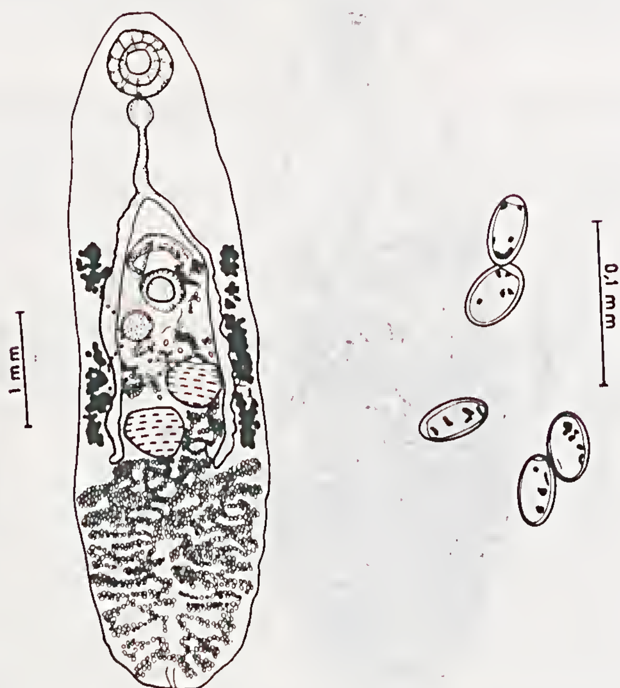


Fig. 4 — *Zeferinella vazi* (exemplar n.° 4) — adulto e ovos.

DISCUSSÃO

A observação da anatomia do digenético, assunto da presente pesquisa, dá ensejo às observações que, a seguir, estão expostas.

Com relação às demais espécies de digenéticos parasitando ofídios, verificados no Brasil, as espécies que mais se aproximam da espécie aqui estudada são: *Plagiorchis luehei* Travassos, 1927[2,3]; *Ochetosoma heterocoelium* (Travassos, 1921)[2,3] e demais espécies do gênero e *Travtrema stenocotyle* Kohn, 1902[2,3].

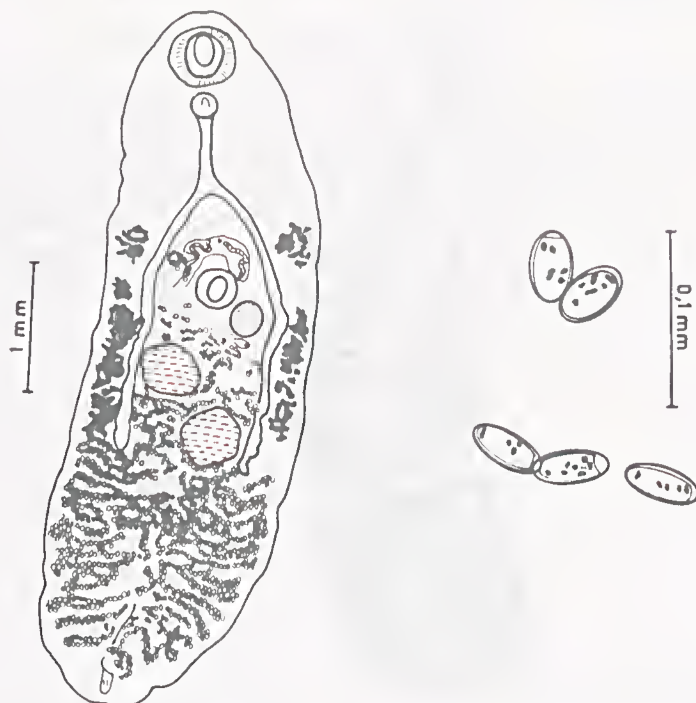


Fig. 5 — *Zeferinella vazi* (exemplar n.° 5) — adulto e ovos.

De *P. luehei*, o novo digenético se distingue pelo esôfago, mais curto em *P. luehei*; os cecos são longos em *P. luehei* e relativamente curtos na nova espécie; vitelinos se estendendo bem para trás dos campos testiculares em *P. luehei* e não ultrapassando os referidos campos na nova espécie.

Das espécies de *Ochetosoma* se distingue pelas seguintes características: acetábulo maior que a ventosa oral em *Ochetosoma*; na espécie em causa, o acetábulo é menor que a ventosa oral; a abertura genital em *Ochetosoma* é lateral e pré-acetabular; na nova espécie essa abertura é paramediana e pré-acetabular.

De *Travtrema*, a nova espécie se afasta: pelo esôfago muito curto em *Travtrema* e bastante longo na espécie em foco. Pelo tamanho relativo das ventosas; em *Travtrema*, o acetábulo é nitidamente maior que a ventosa oral; na nova espécie, o acetábulo é menor que a ventosa oral. As glândulas vitelínicas, aparentemente, estão compactadas em *Travtrema*; na nova espécie tais folículos aparecem em extensão muito mais longa.

ARTIGAS, P. de T & PAULINO, R.C. **Zeferinella vazi** n.g.n.sp. (Plagiorchiidae), parasito da cavidade bucal e esôfago de **Erythrolamprus aesculapii** (Serpentes, Colubridae). **Mem Inst. Butantan,** 50(3):63-69, 1988.

A nosso ver, não há condição, sequer, para situar a espécie ora focalizada em qualquer dos três gêneros, cujas espécies dela se aproximam. Entendemos, assim, que nada se opõe à consideração de que estamos tratando de uma espécie nova que deve servir de tipo a um novo gênero. À vista do que, propomos para este digenético a denominação de *Zeferinella vazi* n.g. n.sp.

A nova composição designativa é uma homenagem à memória do Prof. Zeferino Vaz, que, durante vários anos, trabalhou, de modo intenso, no estudo de digenéticos parasitos de animais da fauna brasileira, predominantemente de peixes.

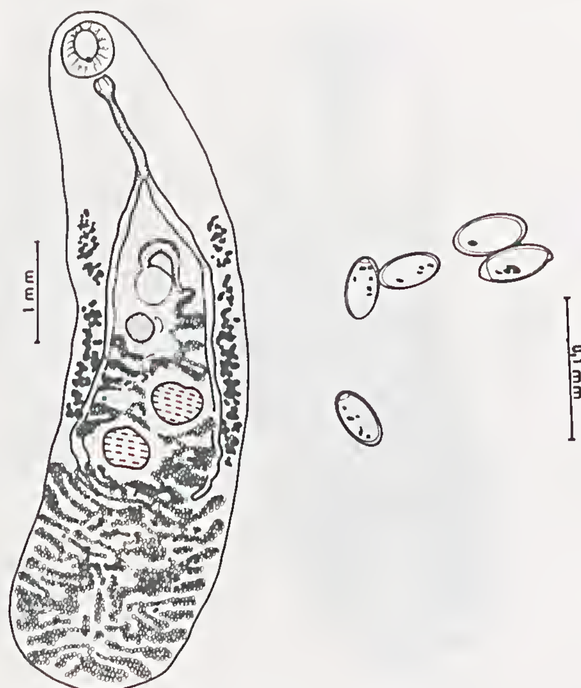


Fig. 6 — *Zeferinella vazi* (exemplar n.° 6) — adulto e ovos.

Os seis exemplares, cujos desenhos estão presentes nesta publicação, constituem o material tipo para a documentação deste novo parasito de ofídio. Não foi separado um exemplar tipo. Está esse material tipo depositado, sob o número 7.357, na coleção de digenéticos, no Departamento de Parasitologia, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

ABSTRACT: In this paper, are described a new genus and a new species of a digenetic trematode, found in the mouth and oesophagus of a common brazilian snake (COLUBRIDAE), *Erythrolamprus aesculapii* (L.). It is proposed the name *Zeferinella vazi* n.g. n.sp. for this distomic worm. The a.a. call attention for the rarity of this worm; in a very extensivy research, with more than 4000 examinated snakes, it is the first time this digenetic worm is found.
KEYWORDS: *Trematoda. Plagiorchiidae. Serpentes. Colubridae.*

ARTIGAS, P. de T. & Paulino, R.C. **Zeferinella vazi** n.g.n.sp. (Plagiorchiidae), parasito da cavidade bucal e esôfato de **Erythrolamprus aesculapii** (Serpentes, Colubridae). **Mem. Inst. Butantan,** 50(3): 63-69, 1988.

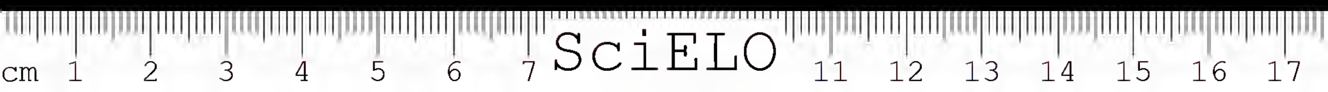
AGRADECIMENTOS

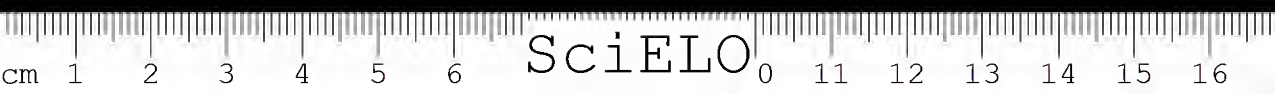
Impõe-se uma lembrança carinhosa de profunda saudade e de agradecimento a José Navas, técnico do Laboratório e recentemente falecido. Foi este excelente companheiro de atividades que teve a oportunidade de necropsiar e colher os parasitos que deram ensejo a esta publicação. Os autores agradecem à Diretoria do Instituto Butantan pelo fornecimento do ofídio utilizado neste trabalho e à desenhista Eliana Viana Prado pela passagem dos desenhos a nanquim.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, A. do. *Serpentes do Brasil: iconografia colorida.* São Paulo, Melhoramentos/EDUSP, 1977. 248 p.
2. CORRÊA, A.A. de S. Fauna de trematóides parasitos de ofídios da área geográfica brasileira. São Paulo, 1980. Tese — Depto. de Parasitologia, ICB, USP.
3. TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T. de ; KOHN, A. Trematóides do Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz 67*:1-886, 1969. Fascículo único.

Recebido para publicação em 28/4/1988 e aceito em 22/7/1988.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 0 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
50(3):71–75, 1988

CESARIANA E ENTEROTOMIA EM CASCAVEL, *CROTALUS DURISSUS COLLILINEATUS* (VIPERIDAE — CROTALINAE)

Clair Motos de *OLIVEIRA* *
Rubens Pinto *CARDOSO JÚNIOR* **
Claudia Stoll *BRUNCKHORST* *
Alma Yasodhara Alexandra *HOGE* ***

RESUMO: Os autores descrevem as etapas da cesariana e enterotomia em *Crotalus durissus collilineatus*. O exame clínico associado ao radiográfico levaram os autores a optarem pelo tratamento cirúrgico. A imobilização do animal, através de gelo seco, permitiu sua contenção e posterior anestesia, feita com associação de Ketalar(R) e Halothane(R), permitindo a realização de intervenção cirúrgica. Comentam-se também os resultados obtidos durante o pós-operatório.
PALAVRAS-CHAVE: Enterotomia, cesariana, distocia, serpente e cascavel.

INTRODUÇÃO

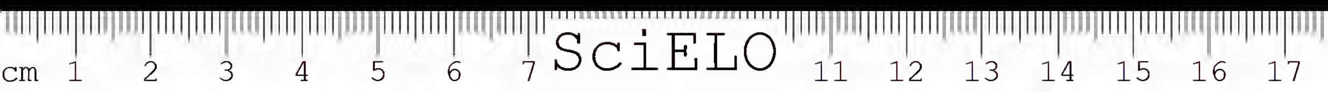
Alguns casos de distocia em serpentes, mantidas em cativeiro para produção de venenos e pesquisa, têm sido observados [1,2,7,11,12,13,14] e tratados com ocitócitos[7,13], aspiração dos ovos[13] e cesariana[1,2,11,12,13,14].

No caso a ser relatado, além da cesariana foi necessária enterotomia.

MATERIAL E MÉTODOS

No dia 15.09.86, foi encaminhada ao Instituto Butantan uma serpente *Crotalus durissus collilineatus* (cascavel), que foi mantida em biotério, à temperatura média de 25°C, durante quatro meses e meio. Ao final deste período, a serpente que pesava 600g e media 92cm de comprimento, pariu dois filhotes: um morto e outro que veio a óbito em noventa dias. Não se encontrou outros filhotes em sua caixa e notou-se aumento de volume em

*Setor de Obstetrícia do Hospital Veterinário — Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia — Universidade de São Paulo.
**Seção de Venenos — Instituto Butantan
***Estagiária da Seção de Venenos — Instituto Butantan



OLIVEIRA, C. M. de; CARDOSO JÚNIOR, R. P.; BRUNCKHORST, C. S.; HOGE, A. Y. A. Cesariana e enterotomia em cascavel, *Crotalus durissus collilineatus* (Crotalinae-Viperidae). *Mem. Inst. Butantan, 50*(3):71-75, 1988.

porção distal do corpo. À palpação foram constatadas três massas: a mais caudal, a 15cm da cloaca, com 6-7cm de diâmetro, de consistência firme, e as outras a 16 e 20cm da cloaca, com diâmetro de 2-3cm, apresentavam-se com pontos de flutuação. Quanto à mobilidade destas formações, apenas as mais craniais podiam ser deslocadas no sentido longitudinal. Ao exame radiológico constatou-se que a formação mais cranial era arredondada e de radiopacidade não homogênea, e as outras, de formato irregular e mais radiopacas (Fig. 1). Não havendo diagnóstico clínico, nem radiológico, optou-se por laparotomia exploratória, realizada oito dias após o parto.



Fig. 1 Exame radiológico mostrando as formações próximas à região da cloaca.

A imobilização da serpente para exames clínico, radiológico e anestesia foi feita com auxílio de gelo seco. Colocou-se a cascavel em caixa de poliuretano fechada, com gelo seco sobre tampa de metal. Com a liberação de CO_2 e o resfriamento local, a serpente em hipóxia e baixa do metabolismo pelo resfriamento, apresentou movimentos mais lentos, o que facilitou a manipulação. A contenção para anestesia e cirurgia foi feita em tubo de poliuretano transparente com tira flexível, presa com velcro (Fig. 2).



Fig. 2. Tubo de poliuretano com fita de velcro(R) para contenção de serpente.

Na anestesia, utilizou-se inicialmente Halothane(R), através de sistema aberto com máscara, e a seguir, quando os movimentos corporais da cascavel se tornaram mais lentos, aplicou-se Ketalar(R) (40 mg/kg)[3, 11, 13] por via intramuscular, o que resultou em perda do reflexo de endireitamento (ao se colocar o animal em decúbito dorsal, este não retorna a sua posição natural), e perda de sensibilidade, após sete minutos. A serpente foi mantida em plano anestésico com Halothane(R), a concentrações variadas, de acordo com seus reflexos.

A serpente foi colocada sobre panos estéreis, em decúbito lateral direito, e todos os cuidados com relação à assepsia foram tomados (utilização de iodo como antisséptico, colocação de primeiro e segundo campos cirúrgicos, esterilização de materiais cirúrgicos, para hemostasia e sutura)[6,9].

Como acesso às formações anteriormente descritas, procedeu-se a incisão longitudinal esquerda de aproximadamente 7cm, a 12cm da cloaca, entre a segunda e a terceira fileiras de escamas dorsais. Seguiu-se à divulsão do tecido sub-cutâneo, incisão da musculatura e membrana celomática. Formações a nível de oviduto e porção final de intestino foram constatadas. Exteriorizou-se o oviduto direito e duas incisões de aproximadamente 3cm (uma 14cm e outra 20cm da cloaca), foram necessárias para retirada de dois embriões mortos, um com 3cm e outro com 15cm de comprimento. A sutura do oviduto foi feita em dois planos: cerzidura e Lembert. A porção final do intestino, próxima à cloaca, foi exteriorizada e uma incisão de 3cm foi suficiente para remoção de três fecalomas de comprimentos variados (7,5cm, 2,5cm, 2,5cm). Seguiram-se as suturas em cerzidura do intestino e da membrana celomática separadamente. A pele foi suturada em pontos simples separados. O fio de sutura utilizado em todas as etapas foi vicryl(R) 4-0.

Durante a cirurgia a freqüência cardíaca manteve-se ao redor de 60 batimentos por minuto. Logo após a cirurgia, a cascavel apresentava reflexo pupilar, porém seus batimentos cardíacos eram débeis, de difícil avaliação e não se notavam movimentos respiratórios. Procedeu-se à respiração forçada (uma sonda uretral n.° 6 foi cortada em sua extremidade e adaptada para entubação endotraqueal) e aplicação de 0,1ml de Cardiasol(R), observou-se melhora em três minutos. A recuperação anestésica ocorreu em sessenta minutos. Um dia após a cirurgia a serpente apresentava-se aparentemente em estado satisfatório. No pós-operatório, adotou-se Binotal(R) (100 mg/kg/72 horas/7 dias)[5,10] e jejum quarenta dias. Pretendia-se deixar a sutura de pele, por se tratar de fio reabsorvível, entretanto, apesar de relato em contrário[14], por se temer interferência em ecdise, retirou-se os pontos 90 dias após a intervenção cirúrgica. A serpente encontra-se em bom estado geral, com apetite e defecando regularmente. Com relação às funções reprodutivas, nada ainda pode ser afirmado.

DISCUSSÃO

O Ketalar(R) tem sido utilizado como anestésico em serpentes[2,3,11,13] em doses variando de 30 a 75 mg/kg. Os efeitos relatados são de tranquilização à anestesia em planos superficiais[3]. Por se tratar de aplicação dolorosa, refere-se a importância da contenção[3]. O Halothane(R) mostrou-se eficiente em serpentes[2,4,12], entretanto o animal também tenta evadir-se[4]. O uso de recipientes fechados, na anestesia com Halothane(R), é outra solução viá-



vel[4]. Na prática cirúrgica, planos mais profundos de anestesia precisam ser atingidos, assim, o uso exclusivo de Ketalar(R) não nos parece adequado, já a sua associação com Halothane(R), mostrou-se eficiente.

As técnicas cirúrgicas adotadas em outras espécies[6,9] devem ser seguidas. Cuidados com relação à assepsia são citados pelos autores[2,11,12,13,14]. Estes aspectos quando não respeitados podem ser a causa de insucessos.

CONCLUSÃO

A presença de fecalomas em porção final de intestino, próximos à cloaca, promovendo compressão sobre o oviduto e impedindo a eliminação dos embriões, foi a provável causa de distocia.

A ação do gelo seco promovendo hipóxia e baixa do metabolismo por resfriamento, mostrou-se de valia para a imobilização da serpente, possibilitando sua manipulação e contenção. Antes que o efeito do gelo seco termine, deve ser feita aplicação do Ketalar(R), sendo o Halothane(R) usado apenas para atingir plano anestésico adequado para realização do ato cirúrgico.

A delicadeza dos tecidos internos da serpente nos leva a sugerir a utilização de fio para sutura de menor diâmetro.

ABSTRACT: The authors describe the steps followed during a caesarian and enterotomy in a Brazilian rattlesnake (*Crotalus durissus collilineatus*). The clinical and radiological examinations suggest the need of a surgical intervention. Dry ice was used to permit restraint, contention and anesthesia of the animal. An association of Ketalar(R) and Halothane(R) was used. Comments are also made on the post-operative treatment.
KEYWORDS: Enterotomy, caesarian, dystocia, snake and rattlesnake.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Masao Iwasaki e à Dra. Sandra Maria de Oliveira, pela análise dos dados radiológicos e à Dra. Sonia Umburanas Balady, pela realização da documentação fotográfica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

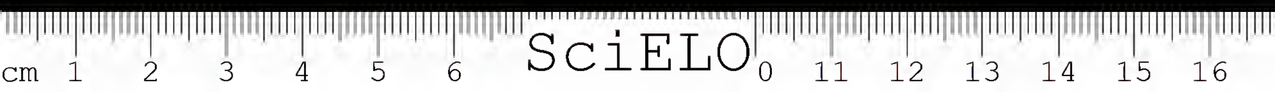
1. BELLUOMINI, H. E. & HOGE, A. R. Operação cesariana realizada em *Eunectes murinus* (Linnaeus, 1758) (Serpentes). *Mem. Inst. Butantan, 28:*187-194, 1957/58.
2. CHIDDINI, R. J. & SUNDERBERG, J. P. Caesarian delivery in the snake. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician, 75*, (10): 1605-1608, 1980.
3. COOPER, J. E. Ketamine hydrochloride as an anesthetic for East African reptiles. *Vet. Rec., 95*: 35-41, 1974.
4. CORDEIRO, C. L. S. *Variação do nível de glicose no plasma sanguíneo de Waglerophis merremii (Wagler, 1824) (Serpentes — Colubridae) sob influência de anestésicos inalantes.* São Paulo, 1978. / Tese de Doutoramento — Instituto de Biociências da USP/.
5. FRANK, W. Amphibien und reptilien: 161-402 in: ISENBUGEL, E. & FRANK, W. Heimtierkrankenheiten — UFB fur Wissenschaft-Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co. 1985.
6. GOMES, O. M. Cirurgia experimental. São Paulo, Sarvier S/A, 1978.
7. HUFF, T. A. The use of oxytocin to induce labour in a Jamaican boa (*Epicrates subflavus. Int. Zoo. Yearb., 16:*82, 1976.
8. JACKSON, O. F. Reptiles and the general practitioner. *Vet. Rec., 95:* 11-13, 1974.
9. LEONARD, E. P. Cirurgia de pequeños animales. Editorial Científico Medica, Espanha: 129-145, 1972.

OLIVEIRA, C. M. de; CARDOSO JÚNIOR, R. P.; BRUNCKHORST, C. S.; HOGE, A. Y. A. Cesariana e enterotomia em cascavel, *Crotalus durissus collilineatus* (Crotalinae-Viperidae). *Mem. Inst. Butantan, 50* (3):71-75, 1988.

10. MARCUS, L. C. Veterinary biology and medicine of captive amphibians and reptiles. Philadelphia, Lea e Fabiger, 1981.
11. MURDER, J. B.; HAUSER, J. J. & PERRY, J. J. Surgical removal of retained eggs from a Kingsnake (*Lampropeltis getulus*). *J. Zoo. An. Med., 10:* 21-22, 1979.
12. PATTERSON, R. W. Surgical intervention to relieve dystocia in a python. *Vet. Rec., 104:* 551-552, 1979.
13. PETERS, A. R. & COOTE, J. Dystocia in a snake. *Vet. Rec., 100:*423, 1977.
14. VANDEVENTER, T.L. & SCHMIDT, M. Caesarian section on a western Gaboon viper. *Int. Zoo. Yearb., 17:*140-142, 1976.

Recebido para publicação em 18/02/1988 e aceito em 05/08/1988




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
50(3): 77-81, 1988

A OCORRÊNCIA DE TAURINA NA ANÊMONA-DO-MAR *PHYLLACTIS FLOSCULIFERA* LESUEUR 1817

Maria de Fátima Alves Da SILVA*
Flávia Martellini LANDSHOFF*
Marcus BUONONATO**
Raymond ZELNIK***

RESUMO: A anêmona-do-mar *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817 foi submetida a um tratamento extrativo com acetona e metanol e os extratos cromatografados em colunas de Sephadex LH-20, resultando no isolamento de um composto organo-sulfurado que foi identificado por espectrometria no infravermelho como sendo a taurina. O papel biológico deste aminoácido em invertebrados marinhos é discutido.
PALAVRAS-CHAVES: Anêmona-do-mar; Coelenterata; *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817; taurina.

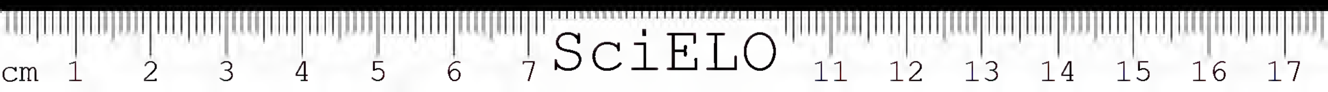
INTRODUÇÃO

As anêmonas-do-mar (Coelenterata, Anthozoa, Actinaria) são conhecidas por liberarem toxinas de natureza polipeptídica[1-3], caracterizadas por propriedades cardiotóxicas[4,5], citolíticas[6] e antitumorais[7]. A realização de pesquisas químicas permitiu a descoberta de substâncias orgânicas, destacando derivados guanidínicos[8], organo-sulfurados[8], organo-fosforados[9] e da triptamina[10]. Uma purina metilada, denominada caissarone, foi isolada na espécie *Bunodosoma caissarum* [11]. No intuito de descobrir substâncias biologicamente ativas de organismos marinhos, empreendeu-se o estudo da espécie *Phyllactis flosculifera* [12], anêmona-do-mar que se encontra no litoral dos Estados de São Paulo e do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

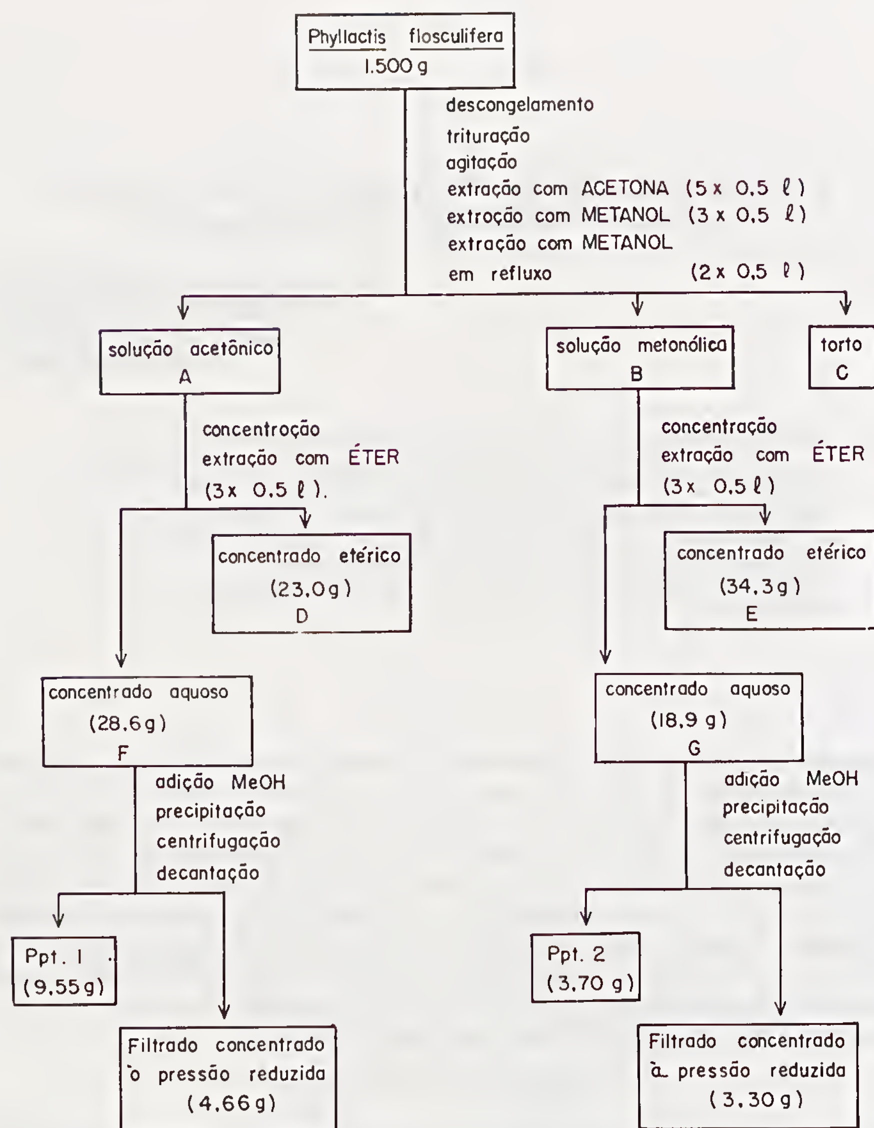
As anêmonas foram coletadas de fundos arenosos e rochosos em São Sebastião e Ubatuba, Estado de São Paulo. Os animais, totalizando

* Bolsistas da FUNDAP e do FEDIB, Serviço de Química Orgânica, IB.
** Biologista, Seção do Museu do Instituto Butantan.
*** Pesquisador-Científico, Serviço de Química Orgânica, IB.
Endereço para correspondência: Instituto Butantan, C.P. 65, 01051, São Paulo, Brasil.



1.500g, foram congelados no Centro de Biologia Marinha da USP em São Sebastião. Após descongelamento, foram triturados num liquidificador e extraídos com acetona e metanol a temperatura ambiente, conforme o fluxograma apresentado no Esquema I.

ESQUEMA I : FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO



Os extratos acetônico e metanólico, A e B, após concentração sob pressão reduzida, foram submetidos à extração com éter sulfúrico para a remoção de pigmentos e lipídeos. Esta operação resultou em extratos aquosos F e G e etéricos D e E, sendo estes últimos deixados para posterior análise.

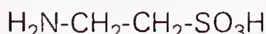
SILVA, M.F.A. da; LANDSHOFF, F.M.; BUONONATO, M.; ZELNIK, R. A ocorrência de taurina na anêmona-do-mar *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817. *Mem. Inst. Butantan, 50* (3): 77-81, 1988.

Aos concentrados **F** e **G**, foi adicionado metanol, formando os precipitados **1** e **2** que revelaram ser idênticos em análises por cromatografia em camada delgada (CCD) (Eluentes: metanol-acetato de etila; adsorvente: Silica H da Merck; revelação: vapores de iodo). Estes precipitados foram reunidos, fornecendo 13,2g e foram submetidos à cromatografia em coluna, empregando Sephadex LH-20-100 (Sigma) como adsorvente e MeOH-H_2O 3:1 como eluente. Os espectros no Infravermelho, devido à ausência de bandas de absorção, permitiram descartar as frações com predominância de sais minerais. Nas frações contendo substâncias orgânicas, evidenciadas pelas análises por cromatografia em camada delgada e por espectrometria no Infravermelho, verificou-se a presença em maior quantidade de um composto orgânico, denominado PH-A, com ponto de fusão em torno de 300°.

RESULTADOS

Ao término das operações cromatográficas e após recristalizações em H_2O-MeOH, obtivemos um total de 770mg da substância PH-A, representando um rendimento de 0,05% sobre o extrato úmido total. Esta substância apresenta-se na forma de agulhas transparentes com ponto de fusão de 296-305°. O teste de Dragendorff[13] para aminas quaternárias foi negativo. O teste de fusão com sódio[14] revelou a presença de nitrogênio e de enxofre. O espectro no Infravermelho apontou bandas de absorção em 3200-3000 (OH ou NH_2), 1620-1590 (NH_2), 1210-1150 (éster ou SO_3H), 1100-1090 (C-O ou SO_3^-) cm^{-1}.

Entre os compostos nitrogenados organo-sulfurados produzidos por organismos marinhos, encontra-se a taurina (ácido 2-aminoetano-sulfônico) (I), de ponto de fusão 300°[8]. Comparando este dado com o da substância PH-A, concluímos tratar-se da taurina, hipótese logo confirmada por comparação direta entre os espectros no Infravermelho da taurina[15] e da substância PH-A.



I

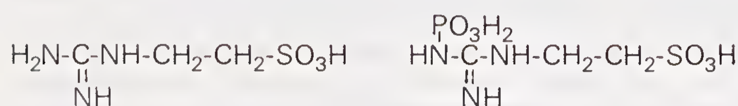
DISCUSSÃO

A presença de taurina em Celenterados foi registrada por diversos autores. Robin e Roche determinaram a distribuição desta substância em quatro espécies de anêmonas-do-mar[16]. Ellington estudou o metabolismo de *Bunodosoma cavernata*[17], tendo verificado que a taurina representa 57% da composição em aminoácidos. Contudo nenhum destes autores esclareceu o papel biológico da taurina nestes invertebrados marinhos.

Outrossim uma alta concentração intracelular de aminoácidos livres caracteriza certos invertebrados pela capacidade de adaptação em ambientes de salinidades diferentes graças a um mecanismo de osmorregulação: os aminoácidos que mais contribuem para este fenômeno são a prolina, a glicina, a alanina e a taurina, sendo que este último, por existir em maior concentração do que os demais, é tido como principal responsável da osmorregulação.[18,19].

SILVA, M.F.A. da; LANDSHOFF, F.M.; BUONONATO, M.; ZELNIK, R. A ocorrência de taurina na anêmona-do-mar *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817. *Mem. Inst. Butantan, 50* (3): 77-81, 1988.

Outro derivado guanidínico da taurina, a taurociamina (II), ocorre nos tecidos das anêmonas-do-mar[16,20] e é considerado como um precursor do fosfágeno (III), particularmente útil como reserva energética para a contração muscular[21].



II III

A anêmona-do-mar *Phyllactis flosculifera* elabora quantidades apreciáveis de taurina, cujo papel biológico poderia ser tanto de fator osmorregulador como de precursor do fosfágeno. A presença de outros metabólitos, tais como a taurociamina (II), não pode ser detectada em virtude da interferência de sais inorgânicos, cuja concentração alta, dificultou os processos de fracionamentos cromatográficos.

ABSTRACT: Acetone and methanol extracts of the sea-anemone *Phyllactis flosculifera*, Lesueur 1817 furnished, upon chromatography on columns of Sephadex LH-20, expressive amount of taurine. The biological significance of this aminoacid and related guanidine derivatives in Coelenterates is discussed.
KEYWORDS: Sea-anemones; Coelenterates; *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817; taurine.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo pelo apoio técnico-científico proporcionado, à Professora Dra. Erika Schlenz do Departamento de Zoologia desta Universidade pela classificação da espécie estudada, ao Professor Dr. John McNamara do Instituto de Ciências Biomédicas e ao Biólogo Mauro Bleich do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo pela preciosa colaboração na laboriosa coleta das anêmonas-do-mar, ao Sr. Jovelino da Silva pelos serviços técnicos prestados. M.F.A. da Silva e F. Martellini Landshoff agradecem, respectivamente, à Fundação para o Desenvolvimento da Administração Pública (FUNDAP) e ao Fundo Especial de Despesas do Instituto Butantan (FEDIB) pela concessão de bolsas de pós-graduação.

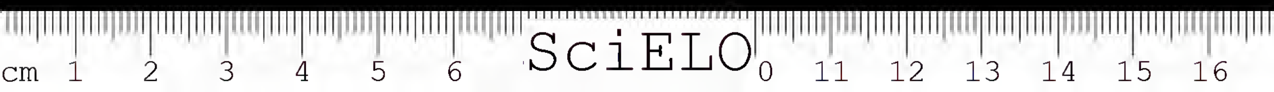
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERNHEIMER, A.W.; AVIGAD, L.S.; BRANCH, G.; DOWDLE, E.; LAI, C.Y. Purification and properties of a toxin from the south african sea anemone *Pseudactinia varia*. *Toxicon, 22* :183, 1984.
2. MEBS, D. & GEBAUER, E. Isolation of proteinase inhibitory, toxic and hemolytic polypetides from a sea anemone, *Stoichactis sp. Toxicon, 18* :97, 1980.
3. SCHWEITZ, H.; VINCENT, J.P.; BARHANIN, J.; FRELIN, C.; LINDEN, G.; HUGUES, M.; LAZDUNSKI, M. Purification and pharmacological properties of eight sea anemone toxins. *Biochemistry, 20* :5245, 1981.

SILVA, M.F.A. da; LANDSHOFF, F.M.; BUONONATO, M.; ZELNIK, R. A ocorrência de taurina na anêmona-do-mar *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817. *Mem. Inst. Butantan, 50* (3): 77-81, 1988.

4. BERESS, L.; BERESS, R.; WUNDERER, G. Isolation and characterization of three polypeptides with neurotoxic activy from *Anemonia sulcata. FEBS Letters, 50* :311, 1975.
5. TAZIEFF-DEPIERRE, F.; MÈTEZEAU, P.; CHOUCAVY, M. Pharmacological investigations on purified toxins isolated from the sea anemone *Anemonia sulcata.* In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL, PLANT and MICROBIAL TOXINS, 5. San José, Costa Rica, 1976. *Proc.* Oxford, Pergamon Press, 1978. p. 557-564.
6. BERNHEIMER, A.W. & LAI, C.Y. Properties of a cytolytic toxin from the sea anemone *Stoichactis Kenti. Toxicon, 23* :791, 1985.
7. DUNN, D.F.; KASHIWAGI, M.; NORTON, T.R. The origin of antitumour activity in sea anemones. *Comp. Biochem Physiol., 50 C* :133, 1975.
8. CHEVOLOT, L. Guanidine derivatives. In: SCHEUER, P.J. ed. *Marine Natural Products.* New York, Academic Press, 1981. v.4 p. 53-91.
9. KITTREDGE, J.S.; ROBERTS, E.; SIMONSEN, D.G. The occurrence of free 2-aminoethyl-phosphonic acid in the sea anemone *Anthopleura elegantissima. Biochemistry, 1* :624, 1962.
10. MATHIAS, A.P.; ROSS, D.M.; SHACHTER, M. Identification and distribution of 5-hydroxy-tryptamine in a sea anemone. *Nature, 180* :658, 1957.
11. ZELNIK, R.; HARAGUCHI, M.; MATIDA, A.K.; LAVIE, D.; FROLOW, F.; WEIS, A.L. X-ray molecular structure of caissarone, a novel purine derivative from the sea anemone *Bunodosoma caissarum* Correa 1964. *J. Chem. Soc. Perkin I*, 2051, 1986.
12. CARLGREN, O. A survey of the Ptychodactiria, Corallimorpharia and Actiniaria. *Kungl. Svenska Vetensk. Handl., 1* (1): 121, 1949.
13. STAHL., E. *Thin layer chromatography.* Berlin, Springer Verlag, 1969.p.873.
14. FIESER, L.F. *Experiments in organic chemistry.* Boston, Health and C°, 1957. p. 226-228.
15. SADTLER STANDARD SPECTRA. Infra-red Spectrogram n.° 10275, Sadtler Research Laboratories Inc., Philadelphia, 1962.
16. ROBIN, Y. & ROCHE, J. Sur la presence de Taurocyamine (Guanidotaurine) chez des Coelentérés et des spongiaires. *C.R. Soc. Biol. 148* : 1783, 1954.
17. ELLINGTON, W.R. Metabolic responses of the sea anemone *Bunodosoma cavernata* Bosc to declining oxygen tensions and anoxia. *Physiol. Zool., 55* : 240, 1982.
18. JACOBSEN, J.G. & SMITH, L.H. Biochemistry and physiology of taurine derivatives. *Physiol. Rev., 48* : 424, 1968.
19. SIMPSON, J.W.; ALLEN, K.; AWAPARA, J. Free amino acids in some aquatic invertebrates. *Biol. Bull., 117* :371, 1959.
20. MAKISUMI, S. Guanidino compounds from a sea anemone, *Anthopleura japonica* Verrill. *J. Biochem.* (Tokyo), *49* : 284, 1961.
21. THOAI, N.van & ROCHE, J. Phosphagens of marine animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci., 90* : 923, 1960.

Recebido para publicação em 01/6/1988 e aceito em 25/8/1988.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 0 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
50 (3):83-99, 1988

UM ESTUDO DE BIOLOGIA COMPORTAMENTAL DA JARARACA, *BOTHROPS JARARACA*, COM USO DE MARCAS NATURAIS

Ivan SAZIMA *

RESUMO: Setenta e um indivíduos (47 fêmeas, 24 machos) de jararaca, *Bothrops jararaca*, foram encontrados ao longo de 29 meses num estudo de campo, em Campinas, São Paulo. Treze indivíduos (12 fêmeas, um macho) foram reconhecidos por marcas naturais, quando reencontrados. Fêmeas adultas pareceram ser mais sedentárias que os machos. Nove fêmeas (cinco visivelmente grávidas) usaram os mesmos sítios (5-7m^2) para assoalhamento e abrigo, por períodos de até 45-78 dias. *B. jararaca* foi raramente observada totalmente exposta a raios solares, sendo mais comum encontrá-la em locais parcialmente sombreados. As serpentes estiveram ativas principalmente ao crepúsculo e à noite, a temperaturas do ar entre 19° e 31°C e umidade relativa entre 68% e 100%. Tanto jovens como adultos podem subir pela vegetação, por vezes a 2m acima do solo. A seqüência das táticas defensivas pode ser escalonada de imobilidade e fuga, a enrodilhamento e bote. Fêmeas adultas (grávidas) foram menos propensas à fuga que os indivíduos jovens e machos adultos, especialmente durante a termo-regulação. Atividade ao longo do ano, na área do estudo, parece abranger um período de pouca movimentação, passado principalmente em abrigos, durante três meses mais secos e frios (jun-ago).
PALAVRAS-CHAVE: história natural, Crotalinae, sudeste brasileiro.

INTRODUÇÃO

A jararaca, *Bothrops jararaca* (Wied), é uma serpente Viperidae com ampla distribuição no sudeste da América do Sul[22, 33]. De hábitos terrestres e atividade basicamente noturna, é encontrada em matas, cerrados, campos cultivados, onde se alimenta principalmente de pequenos roedores[2, 46]. Ovovivípara, produz de 12 a 18 filhotes[3]. Afora as informações de caráter geral, pouco mais há disponível sobre a história natural da jararaca, especialmente em natureza. *B. jararaca* pode ser localmente comum, por vezes ocorre em regiões com alta densidade humana[12, 43] e parece apresentar hábitos ecléticos. Talvez devido a esses atributos, causa c. 50% dos acidentes ofídicos registrados no Brasil[36].

*Departamento de Zoologia, Universidade Estadual de Campinas, 13081 Campinas, São Paulo — Brasil.

SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Mem. Inst. Butantan, 50*(3): 83-99, 1988.

Na presente comunicação, apresento e comento um método para identificação de indivíduos de *B. jararaca* (registro fotográfico das manchas dorsais), usado durante estudo de biologia comportamental desse viperídeo na região de Campinas, São Paulo[38]. (Por biologia comportamental entendo estudos observacionais, de história natural, notadamente sobre aspectos do comportamento.) A identificação e o reconhecimento de indivíduos é uma das necessidades básicas em diversos tipos de estudo, em ecologia e comportamento de animais[25]. Marcação ou uso de marcas naturais permitem diferenciar os indivíduos entre si. O uso de marcas naturais é difundido em estudos de diversos vertebrados, mas tem sido pouco usado em estudos sobre serpentes[11, 25].

Apresento e comento, também, resultados parciais desse estudo de biologia comportamental da jararaca, com objetivo de difundir o uso do método observacional na coleta de dados sobre hábitos de serpentes em natureza, bem como apontar algumas referências básicas a esse tipo de estudo. A necessidade de informações derivadas de estudos observacionais, em história natural[14], tem sido mencionada com freqüência crescente[30, 37, 48], devido ao seu valor no suprimento de conhecimento fatual sobre hábitos de serpentes. Assim, ficam aqui disponíveis informações preliminares sobre os hábitos da jararaca na região de Campinas, em particular seus períodos de atividade, uso habitual de sítios, modos de locomoção e táticas defensivas.

PROCEDIMENTO

1. Área de estudo

O trabalho de campo foi feito na Reserva Mata de Santa Genebra, Campinas, São Paulo (c. 22°49'S, 47°06'W, 640m). É uma área remanescente, com 250ha de mata latifoliada subtropical, semidecídua, cercada por plantações de soja e milho, por vezes algodão. Está situada em terreno de relevo plano a suavemente ondulado, composto por latossolos, ocorrendo solos hidromórficos nas regiões baixas e mal drenadas (há locais brejosos e pequenos cursos de água). A vegetação é característica das matas mesófilas semidecíduas do planalto paulista[8, 29], com predominância de espécies de Leguminosae, Rubiaceae, Meliaceae, Rutaceae, Myrtaceae e Lauraceae (J.Y. Tamashiro, com. pess). As bordas da mata e dos caminhos estão perturbadas por ação antrópica e apresentam grande riqueza de plantas escandentes e trepadeiras.

O clima da região pode ser caracterizado como temperado moderadamente chuvoso, de inverno seco não rigoroso, macrotérmico[29]. O período mais quente e chuvoso está situado entre novembro e fevereiro e o mais frio e seco, entre maio e agosto. O volume anual médio de chuvas é 1 366,8mm, sendo dezembro e janeiro os meses mais chuvosos (total 469,8mm) e julho e agosto, os mais secos (60,0mm). A temperatura média anual é de 22,4°C (média das mínimas 15,5°C e média das máximas 27,3°C). A umidade média anual é de 72,5% (dados climatológicos segundo Seção de Climatologia Agrícola, Inst. Agronômico de Campinas, com médias de 1929 a 1974). Informações adicionais sobre a área estão em Castellani[7] e Senna[39].

Na Mata de Santa Genebra foram encontradas 18 espécies de répteis, sendo as avistadas com maior freqüência, no período de estudo: *B.*

jararaca (77 indivíduos), *Dipsas indica* Laur. (14), *Oxyrhopus trigeminus* D., B. et D. (10) e *Spilotes pullatus* (L.) (7), entre as serpentes e *Tupinambis teguixin* (L.), *Mabuya frenata* (Cope) e *Mabuya dorsivittata* Cope, entre os lagartos (não recenseados).

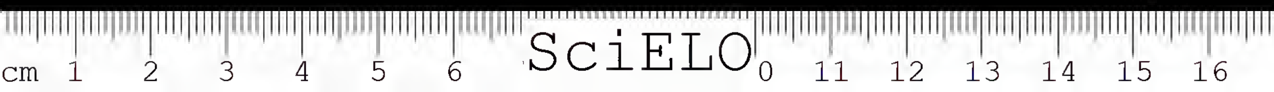
2. Modo de procura e esforço de captura

As jararacas foram procuradas principalmente em bordas da mata, caminhos ou clareiras. Esses ambientes de interface, além de facilitar o encontro e a observação (devido à maior visibilidade), podem ser mais favoráveis à ocupação por algumas espécies de serpentes, por apresentarem maior disponibilidade de locais para termo-regulação, abrigos e alimento[49]. A procura das serpentes foi visual, durante caminhada ou em veículo rodando a baixa velocidade (5-10km/h). Ao longo dos 29 meses do estudo, outubro 1985 a fevereiro 1988, o esforço de captura foi c. 3 800km percorridos (400 a pé e 3 400 em veículo) totalizando 616h de trabalho de campo. Nos primeiros 24 meses, os horários de procura cobriram os mais variados períodos e condições meteorológicas, com objetivo de reunir informações em circunstâncias as mais diversificadas (e.g., períodos de atividade, termo-regulação, uso de sítios, modos de locomoção); nos 5 meses subseqüentes, a procura foi mais restrita, concentrando-se nos períodos e condições mais produtivos ao estudo de aspectos como comportamento predatório e táticas defensivas.

3. Documentação individual e espécimes-testemunho

Localizada a serpente, estacionária ou em locomoção, fotografias foram tomadas (diapositivos a cores), para documentar circunstâncias, posições, posturas e, principalmente, para individualizar o animal pela variação nas manchas dorsais (Figuras1-6). Para isso, ambos os flancos de cada jararaca foram fotografados (por vezes, para uma posição adequada era necessário ajeitar ou reter o animal por instantes). O documentário do desenho dorsal era periodicamente revisto, para detectar presumível reencontro dos mesmos indivíduos. Esquemas foram feitos (Figura 2) a partir da projeção dos diapositivos, facilitando a comparação das manchas dorsais, com vistas à familiarização com os indivíduos estudados.

O comprimento total de cada serpente foi avaliado visualmente por comparação com escala e, periodicamente, alguns indivíduos eram retidos e medidos com régua milimetrada, para aferição das estimativas (o erro foi inferior a 5% na maioria dos casos, nunca ultrapassando 10%). O sexo do animal foi verificado visualmente, sendo feita a palpação ou sondagem[11] nos casos de dúvida (o mesmo procedimento foi usado para avaliar gravidez). Os cuidados em não perturbar ou manusear as serpentes visaram à interferência mínima, uma condição desejável em estudo observacional de um tipo de animal cujo encontro é fortuito e a observação em natureza, difícil[2, 11, 32]. Na necessidade de reter algum indivíduo para exame em laboratório, o animal foi solto após um a dois dias, em mesmo local e período em que foi capturado. O local onde um dado indivíduo foi avistado era assinalado na cerca que margeia a reserva, ou na vegetação. Temperatura do ar, umidade relativa (UR) do ambiente, condições meteorológicas, foram registradas quando localizada uma serpente.



Duas fêmeas de *B. jararaca*, uma juvenil (ZUEC 512) e uma adulta (ZUEC 612), depositadas no Museu de História Natural da Univ. Est. Campinas, mais 525 diapositivos a cores, são os espécimes-testemunho do presente estudo.

4. Observação de comportamento

Métodos de observação naturalística e manipulação experimental do ambiente [25] foram usados no estudo de diversas fases do comportamento (e.g., locomoção, defesa, predação), além do registro dos períodos de atividade e uso habitual de sítios por alguns indivíduos. Amostragem "ad libitum" foi adotada na maioria das observações de campo, devido à natureza fortuita do encontro dos animais, ao caráter exploratório do estudo e ao valor heurístico do método [25]. A coleta de dados comportamentais seguiu os métodos de "todas as ocorrências" e "amostragem de seqüências"[25], totalizando 116 horas de estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

USO DE MARCAS NATURAIS

1. Aplicação do método em jararacas

A jararaca, *Bothrops jararaca*, apresenta manchas angulares ao longo do corpo, em forma de "V" invertido, na maioria dos espécimes. O formato, a integridade, as dimensões e a posição relativa das manchas variam individualmente, bem como a tonalidade do colorido básico (Figuras 1-5). Essas variações são identificáveis com mais facilidade na região mediana do corpo, devido ao seu obscurecimento na anterior e à fragmentação na posterior (Figuras 1, 3a-d). As manchas podem apresentar formato trapezoidal (Figuras 1a, 3e-f) ou fragmentar-se (Figura 2) ao longo do corpo, sendo condição mais comum a irregularidade de uma ou poucas manchas num dado indivíduo. Graus variados de fusão, fragmentação, redução e outros tipos de deformação, aliados à posição relativa dessas irregularidades nas manchas (Figuras 2-3 e 5), permitiram a caracterização de 71 indivíduos (47 fêmeas, 24 machos), dos 77 encontrados no presente estudo — duas serpentes foram mortas durante a manutenção dos aceiros e quatro não foram documentadas. Quando ocorreram irregularidades semelhantes no mesmo lado de dois indivíduos, esses puderam ser diferenciados entre si pelo exame concomitante dos seus lados esquerdo e direito. Para isso, é ideal que o animal seja documentado em postura pouco ondulada ou, mesmo, quase esticada (Figura 3a-d). No caso de indivíduos com manchas regulares, sem variação notável (Figura 2, n.º 14), essa postura é particularmente desejável, pois pormenores podem ficar pouco evidentes e dificultar o reconhecimento posterior. (Essa é uma das maiores fraquezas do método, baseado justamente em irregularidades.)

No presente estudo, o uso de marcas naturais (variação nas manchas dorsais) foi satisfatório a ponto de permitir o reconhecimento de três indivíduos após mudanças no seu aspecto, como quando embarreados e logo após muda de pele (Figura 3c,d), apesar da diferença na nitidez das manchas e da tonalidade básica. No início do estudo, os cerca de 20 in-

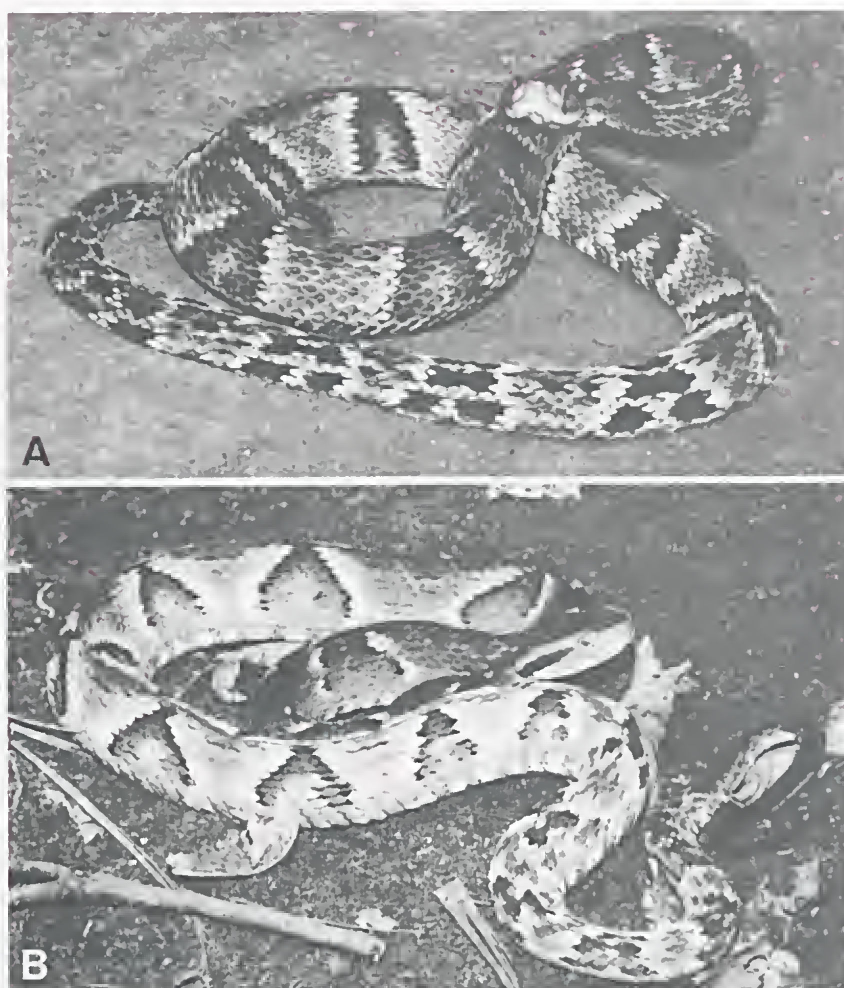


FIGURA 1 — *Bothrops jararaca*, dois exemplos de variação em tonalidade básica e formato do padrão de desenho dorsal, que ocorrem na Mata de Sta. Genebra, Campinas, São Paulo. A — indivíduo escuro, com manchas trapezoidais (macho n.º 42, 91cm, em fase de enrodilhamento com bote armado; note distensão e achatamento do corpo); B — indivíduo claro, com manchas triangulares (fêmea 49, c. 85cm, retraída em uma das posturas adequadas para desferir bote defensivo).

divíduos não pareciam oferecer dificuldade para reconhecimento posterior, mas quando seu número ultrapassou 50, precisei repassar o documentário a cada encontro, comparando as novas fotografias com as arquivadas. Com o passar do tempo, alguns indivíduos com marcas particulares tornaram-se familiares a ponto de não ser necessária a documentação para seu reconhecimento (e.g., fêmea 30, figura 3e-f). Essa familiaridade é desejável, devido a variações individuais de comportamento (veja exemplos e comentários em Slater[44]).

2. Limitações do uso de marcas naturais

Em estudos sobre serpentes, marcação de indivíduos tem sido preferida ao uso de marcas naturais (veja discussão de diversos métodos em

Fitch[11]). Para Fitch[11], o uso de marcas naturais em estudos sobre serpentes é complicado, pouco controlável e muito menos eficiente que um sistema baseado em numeração seriada. Entretanto, o método de marcas naturais mostrou ser proveitoso em estudo ecológico do colubrídeo *Natrix natrix* (L.), na Europa, tendo sido estendido para outras espécies de répteis e anfíbios[6]. Os oito requisitos básicos propostos por Lewke & Stroud[27], para marcação de serpentes em estudos de campo, foram satisfeitos no presente trabalho, com maior ou menor confiabilidade.

Concordo, em parte, com a crítica de Fitch[11] e adotaria outros modos de individualizar as serpentes, caso fosse essencial manusear o animal (e.g., para tomar medidas precisas de peso, comprimento rostro-anal, temperatura cloacal), ou o número de animais fosse muito alto. Na fase seguinte ao presente estudo, as serpentes estão sendo capturadas, marcadas por picotamento de escamas ventrais[5], pesadas e suas medidas tomadas, visando ao estudo de aspectos do crescimento. Entretanto, acredito ser viável o uso de marcas naturais em estudos observacionais, por período limitado (algumas semanas a 1-2 anos), com até 50-70 indivíduos. De qualquer modo, a escolha de um dado método de marcação depende dos objetivos do estudo [11,25] e das limitações do pesquisador. A jararaca mostrou ser uma serpente adequada para o método, sendo provável que indivíduos de outras espécies de *Bothrops* possam ser reconhecidos por marcas naturais. Penso que espécies basicamente unicolores ou com padrão simples ofereçam dificuldades maiores mas, teoricamente, indivíduos de qualquer espécie de serpente teriam alguma marca apropriada para reconhecimento posterior[21].

3. Vantagens do método

A situação vantajosa do uso de marcas naturais, em estudos de hábitos de serpentes, fica mais evidente em observações sobre comportamento predatório em encontros provocados (Figura 3c), comportamento de termo-regulação (Figura 3e-f), registro de indivíduos durante deslocamentos por um mesmo sítio (Figura 3a-b), ou uso habitual de um dado sítio (Figura 5a-b). Em qualquer dessas circunstâncias, as perturbações causadas pelo observador, incluindo captura e manuseio, resultam na fuga do animal e arruinam a observação (Patterson & Davies[32] comentam a raridade das observações sobre comportamento de serpentes em natureza, à parte de fuga). Além disso, o manuseio causa estresse ao animal e, no caso de espécies peçonhentas, há a considerar o risco envolvido no manusear repetido[11].

Com o uso de marcas naturais foi possível o reconhecimento posterior de 13 invidíduos, 12 fêmeas e 1 macho, no decorrer do estudo (portanto, 18% de reencontros ou "recapturas"). Ainda, foi possível a observação intermitente de nove dessas fêmeas, nos seus sítios habituais, por períodos de até onze semanas. Esses resultados, mais as observações independentes de reconhecimento individual, forneceram uma idéia inicial dos hábitos de *Bothrops jararaca* na região de Campinas, resumidamente relatada por Sazima[38] e aqui ampliada com informações adicionais e comentários.

SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Mem. Inst. Butantan, 50* (3): 83-99, 1988.

BIOLOGIA COMPORTAMENTAL

1. Período de atividade

As jararacas foram encontradas em atividade [13] a maior parte do ano, de outubro a maio, sendo a maioria observada de novembro a fevereiro, durante a época mais úmida e quente (Figura 4). Não foram encontradas de junho a setembro, os meses mais secos e frios, na região. (Entretanto, veja comentário em Gibbons & Semlitch[13] sobre a atividade percebida e as falhas disso resultantes, na coleta de dados sobre atividade de serpentes.) Encontrei indivíduos ativos de *B. jararaca* a temperatura ambiente entre 19° e 31°C e UR de 68 a 100%. Rosenfeld[36] menciona que a maioria dos acidentes ofídicos, no Brasil, incluindo os causados por jararaca, ocorre nos meses mais quentes e chuvosos, a temperaturas acima de 18°C e UR entre 75 e 94%. Esses fatos indicam que maior incidência de acidentes corresponde a maior atividade de serpentes, entre outras causas. Deslocamentos das jararacas foram observados nos diversos períodos do dia, a maioria dos indivíduos ativos (48 em 52) sendo encontrada ao crepúsculo e no início da noite (18h30-21h30), presumível fase de maior atividade, nas serpentes consideradas noturnas[42] (mas veja Gibbons & Semlitch[13]). Para *Bothrops moojeni* Hoge, em Minas Gerais, Leloup[26] encontrou período de atividade noturna semelhante à aqui referida.

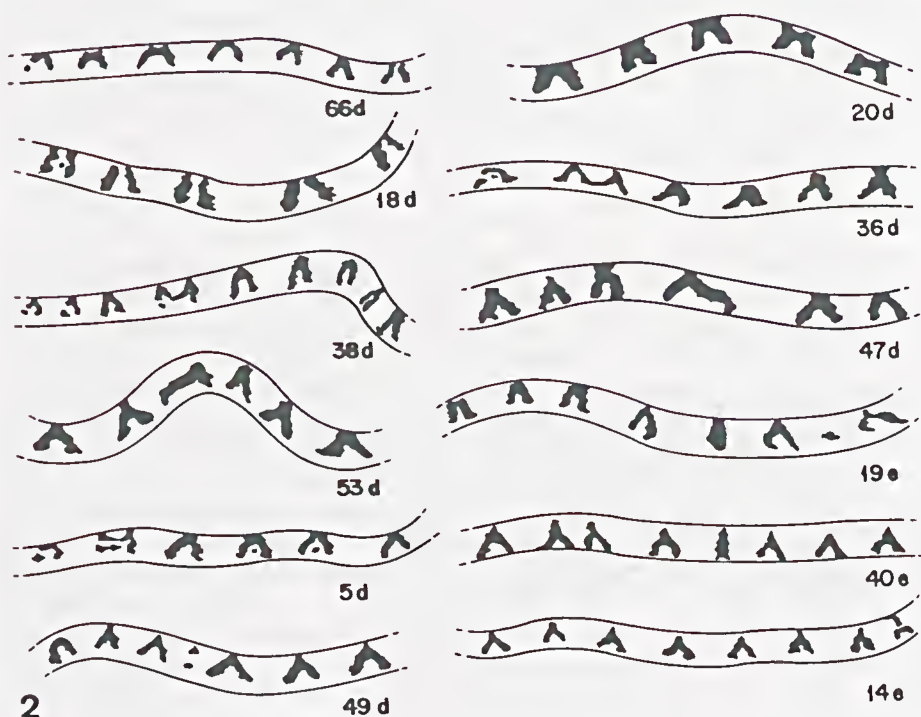


FIGURA 2 — Exemplos de variação em formato, irregularidade e disposição do padrão de desenho dorsal, na região mediana do corpo, em 12 indivíduos de *Bothrops jararaca*, permitindo a sua caracterização na população de Sta. Genebra. Os números representam a numeração seqüencial atribuída aos indivíduos, à medida que são encontrados; as letras, o seu lado direito ou esquerdo.

2. Termo-regulação

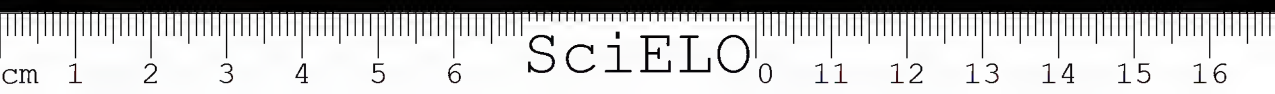
Durante o dia foram encontrados 23 indivíduos de *B. jararaca* (21 fêmeas, 2 machos), dos quais 19 em postura enrodilhada ou encurvada, no chão, sobre serapilheira, ou na vegetação (Figuras 3e, 5a, b). Nessas ocasiões, as jararacas podem ficar total ou parcialmente encobertas pela folhagem, dificultando ainda mais a sua detecção visual, já complicada pela sua coloração procríptica (Figura 5a). A atividade diurna esteve, em geral, relacionada a termo-regulação comportamental[13, 23]. A jararaca raras vezes foi vista totalmente exposta à radiação solar, sendo mais comum encontrá-la em locais onde a radiação estivesse interceptada total ou parcialmente pela vegetação ("sun-shade mosaic"[19]). Aquecimento foi freqüente em locais previamente expostos à radiação, ao longo do dia. À noite, as jararacas podem se aquecer em postura estirada ou ondulada, achatando o corpo sobre o substrato e comportando-se como um réptil tigmotermo[23, 34]. Outras espécies, como *Bothrops neuwiedi urutu* Lacerda, podem apresentar tendências mais heliotérmicas, como observei na Serra do Cipó, Minas Gerais, em diversas épocas do ano.

Na mata de Sta. Genebra, em algumas ocasiões encontrei fêmeas grávidas de *B. jararaca*, ou indivíduos que ingeriram presa recentemente, em locais com temperaturas do ar entre 32° e 34°C. (Regal[34] e Greenwald & Kanter[18] discutem as vantagens adptativas de termofilia e eficiência digestiva em serpentes.) Leloup[26] encontrou indivíduos de *B. moojeni* ativos à temperatura de 14°C e fêmeas grávidas parcialmente expostas a temperaturas de até 57°C, fatos que sugerem ser essa serpente mais euritérmica que *B. jararaca*. Entretanto, o comportamento termo-regulatório e o seu significado ecológico somente poderão ser satisfatoriamente estudados com rádio-telemetria[28].

3. Sedentarismo em fêmeas

O uso habitual de um dado sítio foi observado em nove fêmeas de *B. jararaca* (cinco delas visivelmente grávidas), por períodos que variaram de 3 a 78 dias. Uma fêmea com c. 100cm usou um sítio com c. 5m2 por 45 dias seguidos (8 jan-21 fev 87), permanecendo à vista por períodos de 1 a 7h. Passava parte do tempo termo-regulando (Figura 3e) e, ao entardecer, abrigava-se sob densa coivara, no mesmo sítio. Uma outra fêmea, grávida, c. 110cm, foi esporadicamente avistada termo-regulando (Figura 5a) numa área com c. 7m2, ao longo de 78 dias (25 out 87-10 jan 88), tendo feito a ecdise duas vezes, nesse período. Em certos locais, trechos da vegetação ficaram acamados devido à presença habitual, por períodos prolongados, das serpentes. Três fêmeas adultas foram avistadas em atividade noturna, em locais distantes c. 5, 18 e 200m dos seus sítios diurnos. Nos sítios de quatro fêmeas havia tocos de árvores ou escavações por mamíferos, usadas como abrigo (diurno ou noturno) pelas serpentes. Na Serra do Cipó, Minas Gerais, observei sedentarismo (embora por período limitado a seis dias), em duas fêmeas de *B. neuwiedi urutu*.

Os exemplos de aparente sedentarismo em *B. jararaca* são semelhantes ao observado para uma fêmea de *Bothrops asper* (Garman)[14] e diversos indivíduos de *Lachesis muta* (L.)[16], na Costa Rica, podendo representar um comportamento habitual de alguns viperídeos neotropicais, em certas épo-



cas. Entretanto, dados obtidos de poucos indivíduos, numa mesma área e por pouco tempo, devem ser interpretados com cautela: Shine[41], em estudo rádio-telemétrico de uma espécie de elapídeo australiano, encontrou considerável variação intra-populacional em atividade e uso de habitat. Um macho de *B. jararaca* (c. 70cm) foi reencontrado após 25 dias (25 out-14 dez 87), em local distante c. 1 km, em linha reta, do sítio onde fora avistado a primeira vez. Os parcos dados obtidos dos reencontros sugerem que as fêmeas adultas de jararacas sejam mais sedentárias que os machos (ao menos em determinadas épocas), possivelmente relacionado à gravidez. Sedentarismo em fêmeas grávidas, bem como tendência dos machos a vaguear mais, são conhecidos para outras espécies de serpentes, durante a época de reprodução[13].

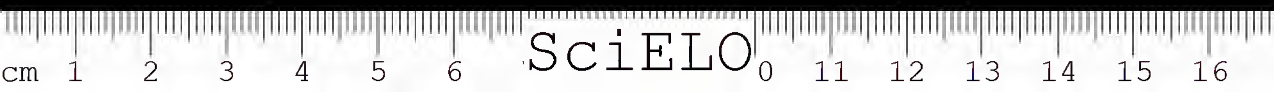
4. Atividade durante o ano

O padrão de atividade ao longo do ano, para a população de *B. jararaca* de Sta. Genebra, parece ser do tipo unimodal[13], contendo um período de pouca movimentação, a julgar pelos encontros (Figura 4) (veja, porém, advertência sobre atividade em Gibbons & Semlitch[13]). Esse período, provavelmente passado na maior parte em abrigos, ocorreu principalmente de junho a agosto, podendo se estender até setembro. Essa aparente ausência de atividade pode estar relacionada à baixa umidade e à menor disponibilidade de presas, à semelhança do encontrado para algumas outras espécies de serpentes[20, 35]. Observações limitadas sugerem que roedores e outras presas potenciais (anfíbios, lagartos), que ocorrem na área de estudo, diminuem sua atividade nos meses secos e frios. Com início das chuvas e aumento de temperatura, as jararacas provavelmente saem dos abrigos e a maioria dos indivíduos realiza ecdise, a julgar por sua aparência aveludada e mudas encontradas nas proximidades dos presumíveis abrigos. Num estudo sobre o lagarto teiú, *Tupinambis teguixin* (L.), na região de Rio Claro, São Paulo, Helena R. Lopes (com. pess.) encontrou ritmo sazonal de atividade semelhante ao aqui relatado para *B. jararaca*, incluindo uso de hibernáculos e saída seguida de ecdise. Penso que ritmos parecidos sejam encontrados em algumas outras espécies de répteis, em regiões com clima semelhante.

A partir de outubro-novembro surgiram as primeiras fêmeas visivelmente grávidas, encontradas até março. Esse fato sugere que ao menos parte dos acasalamentos, na Mata de Sta. Genebra, poderia ocorrer na época que antecede o período invernal. Leloup[26] observou, para *B. moojeni*, acasalamentos a partir de maio, as primeiras parturições acontecendo sete meses após, em plena época chuvosa. Em *Bothrops insularis* (Amaral), as cópulas foram observadas de agosto a setembro, os primeiros nascimentos ocorrendo em janeiro[1].

5. Locomoção

Os modos de locomoção de *B. jararaca* incluem ondulação lateral, locomoção retilínea, em acordeão ou "concertina" e um modo semelhante à ântero-lateral ou "sidewinding", bem como combinações desses modos (veja descrição e discussão dos modos de locomoção de serpentes em Jayne[24]). A ondulação lateral é o modo mais usado (Figura 3a,c), a amplitude e



a regularidade das ondulações variando de acordo com o estado motivacional ("pressa") da serpente e o tipo de substrato. A retilínea foi observada principalmente em fêmeas grávidas, ao se deslocar por superfícies uniformes (Figura 3b). A locomoção em acordeão foi observada em indivíduos ao subir por rampas, em substrato de pouco apoio (arenoso) e, também, antecedendo o bote predatório. A ântero-lateral é um modo complexo de locomoção, usado principalmente sobre superfícies arenosas ou lisas[24]. Em jararacas, foi observada locomoção semelhante, nos indivíduos em fuga (Figura 5c), perturbados quando em áreas abertas, uniformes e arenosas (leito da estrada). Tanto jovens como adultos foram observados deslocando-se na vegetação, por vezes a 1-2m acima do solo. Os jovens podem usar a cauda para funções preensoras, quando na vegetação. Uma fêmea grávida (c. 120cm).usou um agrupamento de capim-elefante, *Panicum maximum*

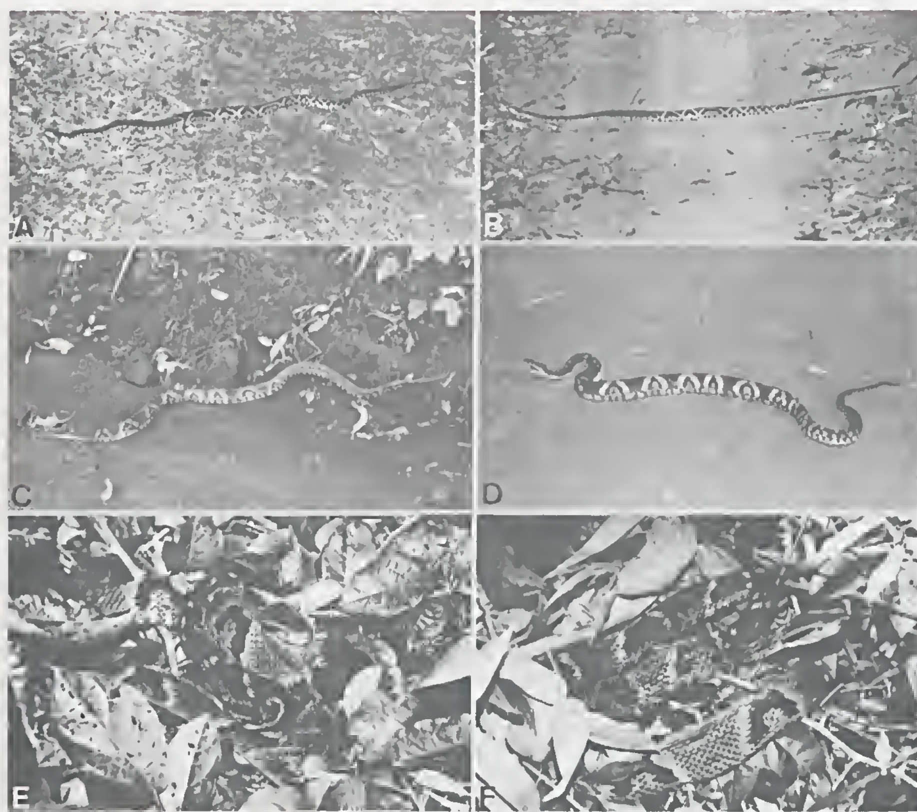


FIGURA 3 — Três indivíduos de *Bothrops jararaca* da Mata de Sta. Genebra, quando do encontro (A, C, E) e reencontro (B, D, F), em diversas circunstâncias. A — fêmea 4 (c. 90cm), ao atravessar caminho na mata, em ondulação lateral (15 dez 85); B — mesmo indivíduo, durante locomoção retilínea, c. 18m distante do local anterior (19 jan 86); C — fêmea 58, 114cm, (embarreada após enxurrada) ao iniciar ingestão de camundongo que envenenou (19 dez 87); D — mesmo indivíduo, no mesmo sítio, após muda recente de pele (17 fev 88); E — fêmea 30 (c. 100cm), grávida, ao assoalhar na vegetação; note postura sigmóide da região anterior, facilitando pronto bote defensivo (4 jan 87); F — mesmo indivíduo, no mesmo sítio, quando preparado para fuga; note região anterior soerguida e postura sigmóide do pescoço (1 fev 87).

Nees, durante termo-regulação, podendo ficar a 2m acima do solo (dez 1987-jan 1988).

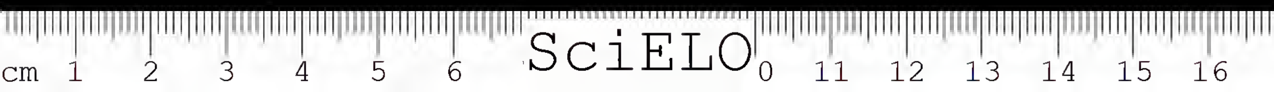
Ao forragear, a jararaca parece combinar as táticas de espreita e de procura, provavelmente predominando a primeira, como é habitual para a maioria das Viperidae estudadas[13, 30]. Entretanto, o seu porte relativamente delgado sugere participação maior de procura ativa, nas suas táticas de caça, que nas espécies mais curtas e robustas de *Bothrops*. As principais fases do seu comportamento predatório, sobre pequenos roedores, são descritas em comunicação à parte, juntamente com o modo de estudo (I. Sazima, manuscrito em preparação).

6. Táticas defensivas

O comportamento defensivo de *B. jararaca* foi aqui estudado em 20 indivíduos adultos (13 fêmeas, 7 machos) e 9 juvenis, em 46 confrontos, usando modo de aproximação semelhante ao descrito por Duvall *et al.*[10], em estudo da cascavel *Crotalus viridis* (Rafinesque), na América do Norte. As ações defensivas da jararaca podem ser apresentadas, de modo escalonado, em quatro fases principais: imobilidade, fuga, retração ou enrodilhamento, bote. A imobilidade é, na jararaca, favorecida pela sua coloração procríptica e conseqüente camuflagem, podendo ser usada por indivíduos anteriormente em deslocamento ou por aqueles já estacionários (e.g., termo-regulando, figura 5b). Imobilidade seguida de fuga foi a tática mais usada (37 dos 46 confrontos).

A fase de fuga inclui modos de locomoção semelhantes aos usados em outras atividades, mas o animal se move direta e rapidamente, afastando-se da fonte de perturbação[10]. A locomoção ântero-lateral, em *B. jararaca*, parece ser usada basicamente em situações defensivas. Fêmeas grávidas exibiram menor propensão à fuga, que as não grávidas, os machos ou os jovens. Essa situação é conhecida para algumas outras espécies de répteis, possivelmente refletindo maior dependência da camuflagem como defesa, face à redução na capacidade de fuga devido à gravidez[15]. Neill[31] sugere que ovo-viviparidade e capacidade defensiva estejam associadas, em serpentes, o que também poderia contribuir à menor tendência à fuga, em fêmeas grávidas de *B. jararaca*. No entanto, nas fêmeas grávidas notei também menor propensão ao bote defensivo, em relação a machos e indivíduos jovens (q.v. adiante).

No seu escalonamento defensivo, a jararaca pode retrair a região anterior do corpo em curva sigmóide (Figura 3d,f), o que possibilita pronta retaliação, desferindo botes. No recuar com bote armado ("cocking", cf. Duvall *et al.*[10]), a serpente permanece com a região anterior retraída em postura sigmóide, encarando o antagonista e recuando com ondulação das porções posteriores do corpo (Figura 5d). Nessa fase, é freqüente o bater rápido da cauda contra o substrato, possivelmente uma exibição de advertência[15]. A fase do enrodilhamento com bote armado (Figura 1a,b) é uma das expressões mais intensas do comportamento defensivo de *B. jararaca*, podendo culminar com o bote. Os indivíduos jovens e machos adultos exibiram maior propensão a desferir bote, que as fêmeas adultas (grávidas), característica encontrada em algumas outras espécies de serpentes[15]. Entretanto, devido ao baixo número de animais testados, à variabilidade individual[10, 15, 44] e à diversidade de circunstâncias, esses dados devem ser toma-



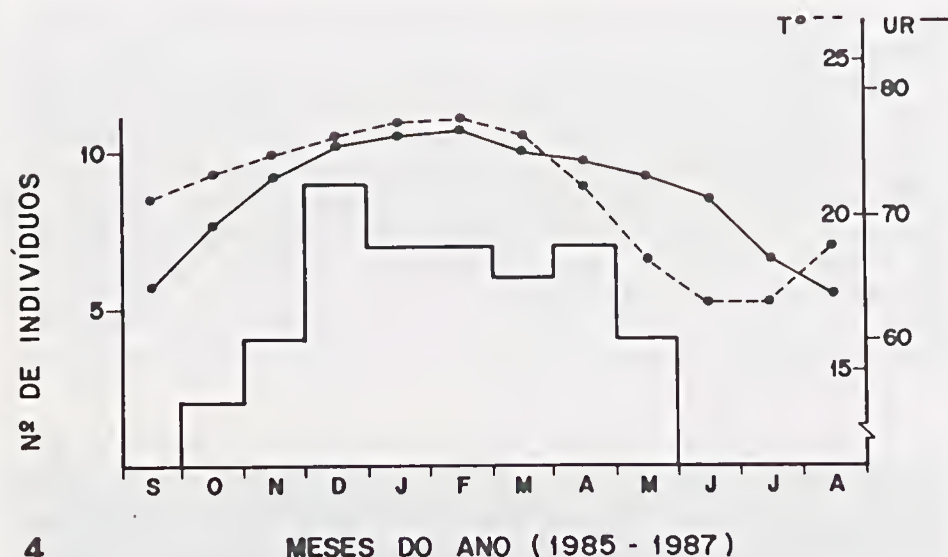


FIGURA 4 — Distribuição, ao longo do ano, de 46 indivíduos (29 fêmeas, 17 machos), de *Bothrops jararaca* encontrados em 24 meses (excluídos os reencontros), na Mata de Sta. Genebra, Campinas, São Paulo. Esforço de captura: 112-146km/mês, totalizando c. 3.200km percorridos. Umidade relativa (UR) e temperatura (T°) representam normais climáticas da região de Campinas, período 1956-1981.

dos com cautela. Encontrei duas fêmeas de jararaca particularmente irritáveis, termo-regulando na vegetação, nas quais a fuga foi precedida por bote (3 em 4 observações, cada) a partir de postura sigmóide da região anterior (Figura 3f), adotada já durante o enrodilhamento na termo-regulação (Figura 3e). É possível que, em função da temperatura corporal, esses dois indivíduos estivessem mais propensos a desferir botes defensivos[17].

No decorrer do bote defensivo, a jararaca projeta bruscamente sua região anterior em direção ao antagonista, em geral abduzindo as maxilas em amplo ângulo (Figura 6). Por vezes, o bote é desferido estando a serpente com as maxilas cerradas ou entreabertas (''botes em falso'', cf. Greene[15]). Retração e bote, antecedendo a fuga, foram usados por seis dos 29 indivíduos testados, em 9 dos 46 confrontos (c. 20%). A freqüência de botes aumenta quando a serpente não tem pronto acesso a vias de escape, circunstância em que chega a c. 90%, mantidas as condições experimentais do confronto[10]. O bote defensivo de *B. jararaca* causa a impressão de ser, em boa parte das vezes, mais lento que o de *B. moojeni* ou *B. neuwiedi urutu*, por exemplo. Para *Crotalus viridis*, a velocidade máxima de bote é de 277cm/seg[45], mas desconheço dados comparáveis para *Bothrops*.

Duvall *et al.*[10] sugerem que o escalonamento defensivo, observado em *C. viridis*, indica ser a serpente capaz de avaliar a intensidade e os riscos decorrentes de um ataque, nas diversas circunstâncias. Esse poderia ser também o caso de *B. jararaca*, que pode exibir modos de defesa diferentes e escalonados, de acordo com as circunstâncias (e.g., em área aberta ou próximo a abrigo, durante o dia ou à noite) e, provavelmente, relacionado a temperatura ambiente[10, 17].

7. Modos de estudo em hábitos de serpentes

O estudo observacional mostrou ser viável e rendoso, na obtenção de informações iniciais sobre diversos aspectos dos hábitos da jararaca. Foi particularmente vantajoso na obtenção de dados sobre táticas defensivas, comportamento predatório (em prep.) e modos de locomoção. Permitiu boa inferência sobre períodos de atividade (avaliados por episódios de deslocamento) e uso habitual de sítios (observação repetida dos mesmos indivíduos), possibilitando, assim, base para um planejamento mais objetivo de estudos com uso de radiotelemetria. Em *B. jararaca*, assim como em outras serpentes, aspectos como ritmo diário de atividade, amplitude de deslocamento e área ocupada num dado período, proporção de tempo empregada nas diversas atividades (termo-regulação, caça) somente poderão ser estudados satisfatoriamente com uso de radiotelemetria[13, 16, 41]. Algumas das informações colhidas no presente estudo são obviamente deficientes (e.g., atividade de termo-regulação). Ainda assim, preferi apresentá-las, dada a pouca informação publicada sobre hábitos das espécies de *Bothrops* do sudeste brasileiro (e.g., Amaral[1] e Leloup[26]).

O estudo naturalístico, observacional, fornece um tipo de conhecimento fatual que não pode ser obtido de outros modos, por vezes usados em estudos sobre hábitos de serpentes (''ecologia sobre animais capturados e mortos'', e.g., [40, 47]). Além disso, possui valor heurístico e permite estudos posteriores mais refinados e testes de hipóteses[14, 25]. Em estudos sobre his-



FIGURA 5 — *Bothrops jararaca*, aspectos de biologia comportamental, na Mata de Sta. Genebra, Campinas. A — fêmea 45 (c. 110cm), ao assoalhar na vegetação baixa, c. 50cm do solo, pouco visível devido à sua coloração procríptica (esse indivíduo foi esporadicamente avistado no mesmo sítio ao longo de 78 dias); B — fêmea 57 (c. 120cm), grávida, ao termo-regular sobre vegetação recém-cortada; podia também subir pela vegetação, a 2m do solo (o indivíduo foi visto diversas vezes nesse sítio, ao longo de 57 dias); C — macho 10 (c. 80cm), durante fuga com uso de locomoção ântero-lateral; D — fêmea 4, durante fuga com bote armado, o animal encarando o antagonista e recuando com ondulações da parte posterior do corpo.

tória natural, o método observacional é único (veja argumentação sobre a importância básica da história natural, para estudos de biologia evolutiva, em Greene[14, 15]).

APÊNDICE

História natural em profilaxia de ofidismo

A utilização de informações originadas em estudos de história natural de serpentes venenosas, na profilaxia de acidentes ofídicos, pode ser discutível. Entretanto, análise preliminar de 25 casos de envenenamento por *B. jararaca*, registrados no Hospital Vital Brazil e ocorridos à época do presente estudo (I.Sazima & J.L.C. Cardoso, inédito), sugere haver correspondência entre diversos aspectos comportamentais aqui comentados e as circunstâncias em que ocorreram os acidentes. Por exemplo, 72% dos acidentes parecem ter ocorrido durante a termo-regulação diurna, circunstância em que a jararaca procura locais com temperatura adequada, sendo difícil de detectar visualmente (Figura 5a). Ainda, nesse período parece ter pouca propensão à fuga, usando mais a imobilidade ou o bote, como recurso defensivo (Figuras 5b, 6). Somado a isso, o período coincide com a maior parte das lides agrícolas (Rosenfeld[36] comenta que a maioria dos acidentes ofídicos ocorre durante a manhã).

Cerca de 45% dos 25 acidentes analisados foram provocados por serpentes jovens, que, além de serem mais difíceis de detectar (menores dimensões), parecem apresentar maior propensão a desferir botes defensivos. A tendência da jararaca a subir pela vegetação, em certas circunstâncias, pode favorecer acidentes (dos 25 estudados, um ocorreu em canavial e outro em milharal — estando a serpente na planta), os quais poderão aumentar com a expansão desse tipo de cultura. O uso habitual de certos



FIGURA 6 — *Bothrops jararaca*, ao desferir bote defensivo contra sola de calçado, aproximado bruscamente (macho 47, c. 65cm).

sítios, para onde a jararaca volta mesmo após perturbação (Figura 5b), pode contribuir para as circunstâncias favoráveis ao acidente ofídico.

A dificuldade na detecção visual da jararaca, o uso habitual que fêmeas dessa serpente podem fazer de alguns sítios, a propensão de certos indivíduos a desferir botes defensivos, possivelmente são fatores que contribuem para aumentar a incidência de acidentes botrópicos. Talvez mais que isso, a jararaca ocorre em áreas alteradas por atividades agrícolas (a exemplo de *B. atrox* na Amazônia[9]), e em regiões com densidade humana relativamente alta [4,43]. Esses fatos, somados à sua aparente versatilidade no uso do ambiente, asseguram a *B. jararaca* uma posição destacada como problema de saúde pública.

ABSTRACT: Seventy one individuals (47 females, 24 males) of the pit viper, *Bothrops jararaca,* were found over 29 months of a field study at Campinas, São Paulo, southeastern Brazil. Thirteen individuals (12 females, one male) were recognized by means of natural markings when later found again. Adult females seemed more sedentary than males. Nine females (five visibly gravid), used the same sites (5-7m2) for basking and sheltering, for periods up to 45-78 days. *B. jararaca* was rarely observed wholly exposed to direct sunlight, being instead commonly seen in partly shaded sites. The snakes were active mostly at dusk and night, at air temperatures from 19° to 31°C, and 68 to 100% air humidity. Young as well as adults may climb on vegetation, sometimes up to 2m above ground. Defensive tactics sequence was escalated from immobility and fleeing, to coiling or cocking, and striking. Adult (gravid) females were less prone to flee than young snakes and adult males, especially when basking. Year-round activity at the study site seems to include a period of little activity spent mostly inside retreats, over three driest and coldest months (Jun-Aug).
KEYWORDS: natural history, Crotalinae, southeastern Brazil.

AGRADECIMENTOS

Sou grato a Augusto S. Abe, por empréstimo de material e bibliografia, críticas ao manuscrito e sugestões; Christine Strüssmann e Miguel T. Rodrigues, por críticas ao manuscrito e sugestões; Pedro A. Federsoni Jr., e Wilson Fernandes, por informações e leitura do manuscrito; Helena R. Lopes, Jorge Y. Tamashiro, Sylvia M. Lucas e Pérsio de Biasi, por informações ou sugestões; Ricardo, Marlies e Cristina Sazima, Christine Strüssmann, Monica e Otávio Froehlich, José P. Pombal Jr. e Èllen Cordeiro, por ajuda no trabalho de campo e sugestões; Paulo R. Manzani, por ajuda no trabalho de laboratório; Rosemary S. de Assis, por tomada de dados no Hospital Vital Brazil; Esmeralda Z. Borghi, por acabamento artístico dos desenhos originais; funcionários de vigia e manutenção da Reserva Mata de Sta. Genebra, por facilitar o trabalho de campo; Fundação "José Pedro de Oliveira", por permitir o trabalho na reserva; CNPq (proc. 300992/79.3) e FAP-UNICAMP (proc. 59/87), por ajuda financeira. Dedico o estudo à memória de Helena R. Lopes, profissional competente e amiga querida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, A. do. Contribuição para o conhecimento dos ofídios do Brasil. *Mem. Inst. Butantan*, Anexos Ofiologia, *1*: 1-88, 1921.
2. AMARAL, A. do. Contribuição à biologia dos ophidios brasileiros. *Coll. Trab. Inst. Butantan, 2* :177-181, 1924.

SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Mem. Inst. Butantan, 50* (3): 83-99, 1988.

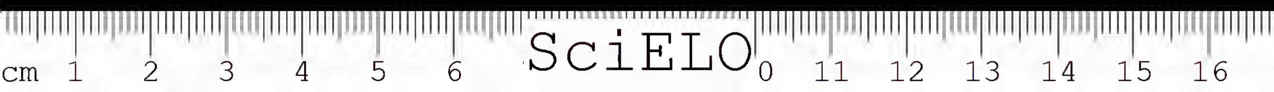
3. AMARAL, A. do. *Serpentes do Brasil*. 1.ª ed., São Paulo, Ed. Melhoramentos & Ed. Univ. São Paulo, 1976.
4. AMARAL, C.F.S.; DOURADO, H.V.; KOUYOUMDJIAN, J.A.; CARDOSO, J.L.C.; CAMPOS, J.A. de; MARQUES, M.M. de A.; LOPES, P.F.A. *Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes ofídicos*. Brasília, Centro Doc. Min. Saúde, 1987.
5. BROWN, W.S. & PARKER, W.S. A ventral scale clipping system for permanently marking snakes (Reptilia, Serpentes). *J. Herpetol., 10* :247-249, 1976.
6. CARLSTROM, D. & EDELSTAM, C. Methods of marking reptiles for identification after recapture. *Nature*, 158:748-749, 1946.
7. CASTELLANI, T.T. *Sucessão secundária inicial em mata tropical semidecídua, após perturbação por fogo*. Campinas, 1986 (Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, mecanografada).
8. CAVASSAN, O.; CESAR, O.; MARTINS, F.R. Fitossociologia da vegetação arbórea da Reserva Estadual de Bauru, Estado de São Paulo. *Rev. bras. Bot., 7* :91-106, 1984.
9. CUNHA, O.R. & NASCIMENTO, F.P. do. Ofídios da Amazônia. X — As cobras da região leste do Pará. *Bol. Mus. Pa. Emílio Goeldi, publ. avuls. 31* :1-218, 1978.
10. DUVALL, D.; KING, M.B.; GUTZWILLER, K.J. Behavioral ecology and ethology of the prairie rattlesnake. *Nat. Geogr. Res.*, 1:80-111, 1985.
11. FITCH, H.S. Collecting and life-history techniques. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK, S.S. ed. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York, MacMillan Publ. Co., 1987. p. 143-164.
12. FONSECA, F. da. *Animais peçonhentos*. São Paulo, Inst. Butantan, 1949.
13. GIBBONS, J.W. & SEMLITCH, R.D. Activity patterns. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK, S.S. ed. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York, MacMillan Publ. Co., 1987. p. 396-421.
14. GREENE, H.W. Natural history and evolutionary biology. In: FEDER, M.E. & LAUDER, G.V. ed. *Predator-prey relationships*. Chicago, Univ. Chicago Press, 1986. p. 99-108.
15. GREENE, H.W. Antipredator mechanisms in reptiles. In: GANS, C. & HUEY, R.B. ed *Biology of the Reptilia*, vol. 16, *Defense and life history*. New York, Allan R. Liss Inc., 1988. p. 1-152.
16. GREENE, H.W. & SANTANA, M.A. Field studies of hunting behavior by bushmasters. *Am. Zool., 23* :897, 1983.
17. GREENWALD, O.E. Thermal dependence of striking and prey capture by gopher snakes. *Copeia*, 1974:141-148, 1974.
18. GREENWALD, O.E. & KANTER, M.E. The effects of temperature and behavioral thermoregulation on digestive efficiency and rate in corn snakes (*Elaphe guttata guttata*). *Physiol. Zool.*, 52:398-408, 1979.
19. HENDERSON, R.W. Thermoregulation in an Hispaniolan tree snake, *Uromacer catesbyi. J. Herpetol., 16* :89-91.
20. HENDERSON, R.W. & HOEVERS, L.G. The seasonal incidence of snakes at a locality in northern Belize. *Copeia*, 1977:349-355, 1977.
21. HENLEY, G.B. A new technique for recognition of snakes. *Herp. Rev.*, 12:56, 1981.
22. HOGE, A.R. & ROMANO-HOGE, S.A.R.W.L. Sinopse das serpentes peçonhentas do Brasil (2.ª ed.). *Mem. Inst. Butantan*, 42/43:373-496, 1978/1979.
23. HUEY, R.B. Temperature, physiology, and the ecology of reptiles. In: GANS, C. & POUGH, F.H. ed. *Biology of the reptilia*, V. 12 *Physiological ecology*. London, Academic Press, 1982. p. 25-91.
24. JAYNE, B.C. Kinematics of terrestrial snake locomotion. Copeia, 1986:915-927, 1986.
25. LEHNER, P.N. *Handbook of ethological methods*. New York, Garland STPM Press, 1979.
26. LELOUP, P. Various aspects of venomous snake breeding on a large scale. *Acta Zool. Pathol. Antverp*, 78:177-198, 1984.
27. LEWKE, R.E. & STROUD, R.K. Freeze-branding as a method of marking snakes. *Copeia*, 1974:997-1000, 1974.
28. LILLYWHITE, H.B. Temperature, energetics, and physiological ecology. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK, S.S. ed. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York, MacMillan Publ. Co., 1987. p. 302-334.
29. MATTHES, L.A.F.; LEITÃO FILHO, H.F.; MARTINS, F.R. Bosque dos Jequitibás (Campinas, SP): composição florística e estrutura fitossociológica do estrato arbóreo. *An. V Congr. Soc. Bot. S. Paulo* :55-76, 1988.
30. MUSHINSKY, H.R. Foraging ecology. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK,



SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Mem. Inst. Butantan, 50* (3): 83-99, 1988.

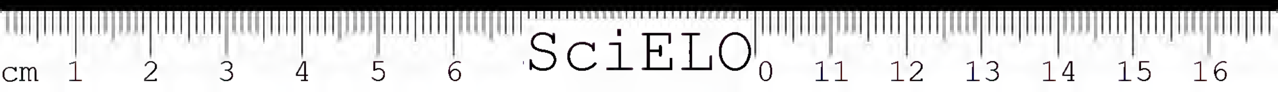
S.S. ed. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York, MacMillan Publ. Co., 1987. p. 302-334.
31. NEILL, W.T. Viviparity in snakes: some ecological and zoogeographical considerations. *Am. Nat.*, 98: 35-55, 1964.
32. PATTERSON, J.W. & DAVIES, P.M.C. Predatory behaviors and temperature relations in the snake *Natrix maura*. *Copeia*, 1982:472-474, 1982.
33. PETERS, J.A. & OREJAS-MIRANDA, B. Catalogue of neotropical Squamata: Part I. Snakes. *Bull. U.S. Nat. Mus.*, 297:1-347, 1970.
34. REGAL, P.J. Thermophilic responses following feeding in certain reptiles. *Copeia*, 1966:588-590, 1966.
35. REYNOLDS, R.P. Seasonal incidence of snakes in northeastern Chihuahua, Mexico. *Southw. Nat. 27* :161-166.
36. ROSENFELD, G. Symptomatology, pathology, and treatment of snake bite in South America. In: BUCHERL, W. & BUCKLEY, E.E. ed. *Venomous animals and their venoms*. New York, Academic Press, 1971. p. 345-384.
37. SAVITZKY, A.H. Coadapted character complexes among snakes: fossoriality, piscivory, and durophagy. *Am. Zool., 23* :397-409. 1983.
38. SAZIMA, I. Biologia comportamental da jararaca. *An. Acad. bras. Ci., 59* :134-135, 1987.
39. SENNA, M.L.C. *Análise e proposições para uma reserva ecológica, sua utilização científica e social. Mata de Santa Genebra*. Campinas, 1979. (Trabalho de graduação interdisciplinar, Fac. Arq. Urb., Pontif. Univ. Catól. Campinas, ed. autor.)
40. SHINE, R. Ecology of the Australian elapid snake *Echiopsis curta*. *J. Herpetol., 16* :388-393, 1982.
41. SHINE, R. Intraspecific variation in thermoregulation, movements and habitat use by Australian blacksnakes, *Pseudechis porphyriacus* (Elapidae). *J. Herpetol., 21* :165-177, 1987.
42. SILVA, J.L.; VALDEZ, J.; OJASTI, J. Algunos aspectos de una comunidad de ofidios del norte de Venezuela. *Biotropica, 17* :112-125, 1985.
43. SILVA Jr., M. *O ofidismo no Brasil*. Rio de Janeiro, Serv. Nac. Educ. Sanit., Min. Saúde, 1956.
44. SLATER, P.J.B. Individual differences in animal behavior. In: BATESON, P.P.G. & KLOPFER, P.H. ed. *Perspectives in ethology*, vol. 4, *Advantages of diversity*. New York, Plenum Press, 1981.
45. VAN RIPER, W. How a rattlesnake strikes. *Nat. Hist., 64* :308-311, 1955.
46. VANZOLINI, P.E. Notas sobre os ofídios e lagartos da Cachoeira de Emas, no município de Pirassununga, Estado de São Paulo, *Rev. bras. Biol., 8* :377-400, 1948.
47. VITT, L.J. Ecological observations on sympatric *Philodryas* (Colubridae) in northeastern Brazil. *Pap. Avuls. Zool., 34* :87-98, 1980.
48. VITT, L.J. & VANGILDER, L.D. Ecology of a snake community in northeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 4: 273-296, 1983.
49. WEATHERHEAD, P.J. & CHARLAND, M.B. Habitat selection in an Ontario population of the snake, *Elaphe obsoleta*. *J. Herpetol., 19* : 12-19, 1985.

Recebido para publicação em 28/6/1988 e aceito em 9/9/1988.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS
PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO
INSTITUTO BUTANTAN
(1987)




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
0 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
50 (3):103-110, 1988.

COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN (1987)

1. BELLUOMINI, H.E.; WAKAMATSU, C.T.; LUCAS, S.M.; CARDOSO, J.L.C.
Acidentes do trabalho por animais peçonhentos.
Rev. bras. Saúde Ocup. 15(60): 38-42, 1987.

Resumo: Entre os 2.757 prontuários dos atendimentos em 1983 do Hospital Vital Brazil foram encontrados 561 casos de ofidismo (20,3%), 1.136 casos de araneísmo (41,2%) e 390 casos de escorpionismo (14,1%). Os restantes 24,4% eram picadas de abelhas, outros insetos, dermatites por taturanas etc. As tabelas mostram a distribuição de acordo com idade e sexo. Foram considerados como acidentes de trabalho 314 casos, sendo a atividade de maior risco a construção civil.

Abstract: The 2.757 file cards of the medical attendances at the HVB in 1983, showed that 561 were cases of ophidism (20,3%), 1.136 cases caused by araneids (41,2%), the remainder, stings by bees and other insects; dermatitis caused by caterpillars etc. The tables show the distribution according to age, sex and occupation. A series of cases — 314 — were regarded as labor accidents, where the civil construction was considered as the activity of highest risk.

2. CARLINI, E.A.; BRAZ, S.; TRONCONE, L.R.P.; TUFIK, S.; ROMANACH, A.K.; PUSTIGLIONE, M.; SPOSATI, M.C.; CUDIZIO FILHO, O.; ALMEIDA PRADO, M.I.
Efeito hipnótico de medicação homeopática e do placebo. Avaliação pela técnica de "duplo-cego" e "cruzamento".
Rev. Ass. méd. bras., 33(5/6): 83-88, 1987.

Resumo: Quarenta e quatro pacientes com insônia foram atendidos nos consultórios de médicos homeopatas e encaminhados ao Departamento de Psicobiologia para responderem a um questionário que avaliava parâmetros do sono: tempo de indução, manutenção, sonhos e pesadelos e despertar. Estes pacientes passaram a receber em esquema "duplo-cego" a medicação homeopática ou placebo, durante três meses, por seis vezes, com intervalos de 15 dias. Metade dos pacientes iniciou o tratamento com placebo e após o 45.° dia passou a tomar medicação homeopática, ocorrendo o inverso com a outra metade. Vinte e seis pacientes terminaram o tratamento, tendo havido melhora marcante da insônia em todos. Esta melhora independeu de medicação ou do placebo e foi observada tanto pelos médicos homeopatas como pelo questionário de sono. Também não houve distinção entre a melhora apresentada por pacientes que iniciaram o tratamento recebendo o medicamento e aqueles que iniciaram com o placebo.

Abstract: Forty four patients attending homeopathic clinics were selected under the basis of complaint of severe insomnia in their symptomatology. The patients agreed to participate in an experiment in which they were to receive homeopathic medication or placebo in a double-blind procedure, during 45 days; after that, the medications were crossed and given for more 45 days.

Evaluation of treatments was performed at 15 days intervals and consisted of attributing degrees for the insomnia symptoms by the homeopathic doctors and the application of a 10 item questionnaire aimed to evaluate sleep parameters such a sleep induction sleep quality dream recall and reawakening.

Twenty six patients ended the treatment and all of them reported a marked improvement of their sleep habits. This improvement was noted through the homeopathic doctor's evaluation as well as through the questionnaire and occurred after both, the placebo and homeopathic remedies.

3. CARNEIRO, S.M. & SESSO, A.
Morphometric evaluation of zymogen granule membrane transfer to Golgi cisternae following exocytosis in pancreatic acinar cells from suckling newborn rats.
J. Submicrosc. Cytol., *19*(1): 19-33, 1987.

Abstract: Pancreatic acinar cells from unfed, newborn rats and sucking for 4,8 and 16 h were studied morphometrically in semi-and ultrathin sections. In the cells of the unfed, newborn rats, numerical and volume densities of the zymogen granules (ZG) and volume of the Golgi apparatus are respectively the highest and lowest observed during peri-and postnatal life. Cisternae of the rough endoplasmic reticulum (RER) appear irregularly disposed among the ZG. Once feeding starts, cytoplasmic volume becomes progressively reduced until the 16th hour owing to sustained exocytosis of ZG contents. The decline in numerical density of ZG between 0 and 4h revealed the minimum number of ZG exocytosed in the first 240min. The sum of the membrane surfaces measured in the various subcellular compartments, [RER, condensing vacuoles (CV), Golgi cisternae (GC), Golgi apparatus-associated microvesicles (GM), 'other structures', apical and basolateral plasmalemmae and mitochondria] did not vary significantly in the various groups of rats. After 4 and 8 h, the net amount of cellular ZG membrane surface internalized represents 10% and 15% respectively of the total measured cell membrane. These quantities are sufficient to account for the expressive increase in membrane surfaces occurring at these times in CV, GC and GM. The curves showing membrane surface decrease in ZG and increase in the Golgi appear to express a precursor → product relationship. The results of topochemical reactions are consistent with the interpretation that part of the ZG membrane internalized after exocytosis induced by alimentary stimulus is reused to expand and/or form trans (thiamine pyrophosphatase positive) and trans-most (acid phosphatase positive) GC.

Resumo: Células acinosas pancreáticas de ratos recém-nascidos não alimentados foram estudadas morfometricamente através de cortes semi e ultrafinos. As densidades numérica e de volume dos grãos de zimogêneo (Z) nas células dos animais não alimentados são as maiores observadas durante a vida pré e pós-natal, enquanto que o volume total do aparelho de Golgi (G) nesses animais corresponde ao menor valor observado. Cisternas do retículo endoplasmático rugoso (RER) estão dispostas de forma irregular por entre os Z. Com o início da alimentação, o volume citoplasmático reduz-se, progressivamente, até a 16.ª hora, devido à contínua exocitose do conteúdo dos Z. O declínio da densidade numérica dos Z entre 0 e 4h revela o número mínimo de Z exocitados nos primeiros 240 minutos. O total de superfície de membranas medidas nos diversos compartimentos subcelulares (RER, Z, vacúolos de condensação, cisternas de Golgi, microvesículas associadas ao aparelho de Golgi, plasmalema apical e basolateral, mitocondria e outras estruturas) não variou significativamente entre os vários grupos de ratos. Após 4 e 8h, o total de superfície de membranas de Z internalizada representa 10% e 15%, respectivamente, do total de membranas medidas na célula. Essas quantidades são suficientes para explicar o nítido aumento de superfície de membrana que ocorre nesses intervalos nos vacúolos de condensação, cisternas de Golgi e microvesículas associadas ao Golgi. As curvas que representam o decréscimo de superfície de membranas de Z e aumento de membranas de Golgi parecem expressar uma relação semelhante à de precursor produto. Os resultados de reações citoquímicas são consistentes com a interpretação de que parte das membranas de Z internalizadas após exocitose induzida pelo estímulo alimentar é reutilizada para expandir e/ou formar cisternas de Golgi mais internas (trans), tiaminopirofosfatase positivas e fosfatase ácida positivas.

4. DENARO-MACHADO, L.; OGATA, T.R.P.; LONGO, M.A.; DAVID, M.L.V.M.G.; KFOURI, S.A.; MACHADO, J.C.
Heterotransplante seriado de linhagem celular tumoral humana (KB) em ratos nude atímicos. I. Estudos biológicos.
Acta Oncol. Bras., *7:* 115-117, 1987.

Resumo: — Os AA. relatam o comportamento biológico de tumores crescidos em ratos nude, pós-transplante de oito passagens sucessivas de linhagem celular tumoral humana (KB), enfatizando a possibilidade de utilização desse modelo experimental em estudos biológicos, fisiológicos e terapêuticos dos tumores assim gerados.

Abstract: — The authors describe the biological behavior of tumors grown in nude rats transplanted in 8 serial passages with human tumor KB cell line, emphasizing the possibility of utilization of this experimental model in biological and physiological studies, as well as in therapeutic assays.

5. FERREIRA, L.A.F. & HENRIQUES, O.B.
Kallikrein isolated from commercial crystalline pepsin preparations.
Brazilian J. Med. Biol. Res., *20:* 511-520, 1987.

Abstract: 1. An experimented designed to study the relationship between pH and kininogenase activity of three commercial preparations of porcine crystallized pepsin showed that each preparation had two well separated pH optima, pH4 and 8. 2. From the inibition spectrum of the pH 8 kinonegenase it was concluded that it is a kallikrein of the glandular type, since it proved to be a serine protease and was insensitive to protein trypsin inhibitors. 3. Kallikrein activity can be separated from pepsin by affinity chromatography on Sepharose-4B-Pro-Phe-agmatine. This separation permitted us to obtain purified material with kallikrein specific activity 43 times higher than that of crude pepsin and which showed a single band on polyacrylamide gel electrophoresis. 4. The kallikrein activity was found to have a molecular weight of 36 kDal and a Michaelis constant of 25μM when acting on

Bz-Pro-Phe-Arg-p-nitroanilide at pH 8.6. 5. On the basis of these properties, kallikrein from commercial pepsin resembles the kallikreins previously described from rat or human stomach.

Resumo: 1 — Experiência realizada para estudar a relação pH-atividade cininogenásica de três preparações comerciais de pepsina cristalizada mostrou que cada preparação apresentava dois pH ótimos nitidamente separados, pH 4 e pH 8. 2 — A partir do espectro de inibição da cininogenase pH 8, concluiu-se ser ela uma calicreína de tipo glandular pois comportou-se como uma serino-protease e foi insensível a inibidores protéicos de tripsina. 3 — A atividade calicreinásica pode ser separada daquela de pepsina por cromatografia de afinidade em Sefarose-4B-Pro-Phe agmatina; esta preparação permitiu-nos obter material purificado, com atividade específica de calicreína 43 vezes maior de que aquela observada com a pepsina comercial utilizada, e apresentou apenas uma banda em eletroforese realizada em gel de poliacrilamida. 4 — Para a proteína com atividade calicreinásica, observou-se um peso molecular de 36 KDal e uma constante de Michaelis de 25M em sua ação sobre Bz-Pro-Phe-Arg-p-nitroanilida, em pH 8.6. 5 — Na base dessas propriedades pode-se afirmar que a calicreína obtida da preparação de pepsina comercial se assemelha à calicreína previamente descrita em estômago de rato ou de homem.

6. HENRIQUES, O.B.; DEUS, R.B. de; SANTOS, R.A.S.
Bradykinin protentiating peptides isolated from casein tryptic hydrolysate.
Biochem. Pharmacol., *36*(1): 182-184, 1987.

Abstract: The observation that a peptone preparation, resulting from tryptic hydrolysis of casein, potentiated bradykinin (Henriques et al, 1983), led us to study this potentiating activity on hydrolysates of α, β and ∂ chains of casein. For this purpose these chains were purified by the method of solubility in urea solution (McMeekin, 1954). These fractions were separately incubated with Trypsin-TPCK. After incubation the enzime was inactivated by heating and the capacity of the hydrolysate to potentiate braddykinin was measured on the isolated guinea pig preparation. Comparing the potentiating activity of these fractions we observed that α -casein hydrolysate was the most active among them. This hydrolysate was chromatographed on Sephadex G-25M and the active peptides separated were further purified by filtration on Sephadex G-25F. From these fractions, the ones that potentiated the effect on the guinea-pig-ileum, 11 to 14 times, were pooled and lyophilized. The whole procedure was repeated twice, starting with the casein fractionation and chromatography on the sane Sephadex colums, with similar results. The avarege activity found for the three preparations was 2.93 ± 0.2 after the G-25M column and 13.3 ± 0.3 after G-25F.

Resumo: A observação de que a preparação de peptona, resultante de hidrolisado tríptico de caseína, potência a bradicinina (Henriques et al, 1983), levou-nos a estudar essa atividade potenciadora em hidrolisados das cadeias α, β e ∂ da caseína. Para isto essas cadeias foram purificadas pelo método de solubilidade em uréa (McMeekin, 1954). As frações foram separadamente incubadas com Tripsina-TPCK. Após a incubação a enzima foi inativada por calor e a capacidade de potenciar bradicinina do hidrolisado foi medida em preparação de íleo isolado de cobaia. Comparando a atividade potenciadora dessas frações observamos que o hidrolisado de α -caseína foi o mais ativo. Este hidrolisado cromatografado em Sephadex G-25M e os peptídios ativos separados foram purificados por filtração em Sephadex G-25F. Dessas frações aquelas que potenciaram 11 a 14 vezes a atividade do íleo isolado de cobaia foram ajuntadas e liofilisadas. O processo todo foi repetido duas vezes, começando com o fracionamento da caseína seguido de cromatografia nas mesmas colunas de Sephadex, obtendo-se resultados semelhantes. A atividade média encontrada para as três preparações foi 2.93 ± 0.2 após cromatografia em Sephadex G-25M e 13.3 ± 0.3 após G-25F.

7. KAMIGUTI, A.S.; ANTONIO, L.C.; MARIANO, M.
Coagulant activity of the venom of mature and immature snakes *(Bothrops jararaca)* on the blood of some mammals. In ASIA — PACIFIC CONGRESS ON ANIMAL, PLANT AND MICROBIAL TOXINS, 1., Singapore, 1987. Progress in venom and toxin research.
Proceedings. Singapore, National University of Singapore, 1987.

Abstract: The intravenous injection of snake venoms in mice was proposed for the determination of the minimum defibrinogenating dose (MDD). This method was used for venoms of mature and immature *Bothrops jararaca* snakes, the latter being responsible for frequent haemostatic alterations in bitten patients. The same MDD was recorded for both venoms. A possible difference in the sensitivity of animal plasma was investigated by examining the coagulant activity of the venoms on citrated plasma of different mammals. Activity of the two venoms varied in the following decreasing order: rabbit, dog, man, rat, hamster, mouse, guinea-pig. In this series, clotting time induced by venom of immature snakes was significantly shorter in all species, except for guinea-pig and mouse plasmas. An inhibitory effect of guinea-pig, mouse and human sera was found on the clotting activity of both venoms. Results suggest that mice and guinea-pigs are not the best choice of animals for the comparative MDD determination of *B. jararaca* venom.

Resumo: A administração intravenosa de venenos de serpente em camundongos foi proposta para a determinação da dose mínima desfibrinogenizante (DMD). Este método foi usado para venenos de serpentes adultas e jovens Bothrops jararaca, sendo as últimas responsáveis por freqüente alteração hemostática nos pacientes picados. A mesma DMD foi registrada para ambos os venenos. Uma possível diferença na sensibilidade dos plasmas foi investigada pelo exame da atividade coagulante dos venenos sobre o plasma citratado de diferentes mamíferos. A atividade dos dois venenos variou na seguinte ordem decrescente: coelho, cão, homem, rato, hamster, camundongo e cobaia.

Nesta série, a coagulação induzida pelo veneno de serpentes jovens foi significativamente em tempo mais curto em todas as espécies, exceto para os plasmas de cobaia e camundongo. Um efeito inibitório dos soros de cobaia, camundongo e humano foi encontrado sobre a atividade coagulante de ambos os venenos. Os resultados sugerem que camundongos e cobaias não são os melhores animais de escolha para a determinação comparativa da DMD do veneno de *B. jararaca*.

8. KAWANO, T. & SIMÕES, L.C.G.
Morphogenetic effects of caffeine on *Biomphalaria glabrata* (Pulmonata, Planorbidae)
Proc. Kon. ned. Akad. Wet., 90C (3): 281-302, 1987.

Abstract: Experiments with 0.1% caffeine solution were carried out using *Biomphalaria glabrata* embryos. The embryos were treated during the first cleavage for 24 hours. Five groups of controls and caffeine-treated embryos were fixed at intervals ranging from 24 to 120 hours after the first cleavage. The results depict the main and most common malformations found in caffeine-treated embryos: 1) Delayed cleavage of cells. 2) Head vesicle formed by 13 cells. 3) Supernumerary cells in the apical plates. 4) Occurrence of monophthalmia dextra or sinistra. 5) Exogastrula.

Resumo: Embriões de *Biomphalaria glabrata* no início da 1.ª clivagem do ovo foram tratados com 0,1% de cafeína durante 24 horas. Cinco grupos de controles e embriões tratados com cafeína foram fixados em intervalos de 24 até 120 horas após a 1.ª clivagem do ovo.

Resultados demonstraram que as principais malformações encontradas em embriões submetidos a cafeína foram:

1) O retardo na clivagem das células
2) Vesícula cerebral formada por 13 células
3) A placa apical constituída de células supernumerárias
4) Ocorrência de monoftalmia dextra ou sinistra
5) Exogástrula

9. KAWANO, T.; SIMÕES, L.C.G.; TOLEDO, L.F. de A.
Nucleolar organizer region in three species of the genus *Biomphalaria* (Mollusca, Gastropoda)
Rev. bras. Genet., 10 (4): 695-707, 1987.

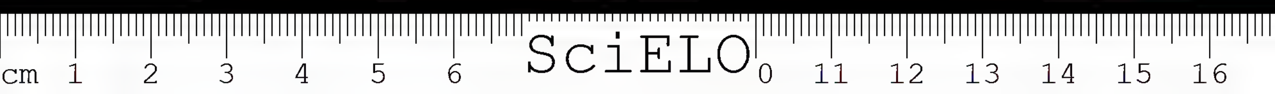
Abstract: The karyotypes of three species of the genus *Biomphalaria* (*B. glabrata*, *B. tenogophila* and *B. straminea*) were analyzed comparatively. The three species have the same diploid chromosome number, 2n = 36. The results obtained were comparated to those previously obtained by different authors.
In the present paper, the chromosomes were classified as follows on the basis of centromere position: *B. glabrata* and *B. tenagophila*, 12 metacentric pairs, 4 submetacentric pairs and 2 subtelocentric pairs; *B. straminea*, 13 metacentric pairs, 3 submetacentric pairs and 2 subtelocentric pairs.
The nucleolus organizer regions (NORs), identified by silver staining, were located on chromosome pair number 11 in all three species.

Resumo: Estudou-se o cariótipo de três espécies de Biomphalaria: *B. glabrata, B. tenogophila* e *B. straminea*. Todas as espécies apresentaram o mesmo número cromossômico de 2n = 36.
Os resultados deste trabalho (de acordo com a posição centromérica dos cromossomos) demonstraram que a *B. glabrata* e *B. tenagophila* possuem 12 pares de cromossomos metacêntricos, 4 pares de submetacêntricos e 2 pares de subtelocêntricos. A *B. straminea* possui 13 pares de cromossomos metacêntricos, 3 submetacêntricos e 2 pares de cromossomos subtelocêntricos.
Compararam-se os resultados de diferentes autores com relação à classificação morfológica dos cromossomos.
As três espécies estudadas apresentaram (grupo VI) a RON, que foi identificada pela coloração por nitrato de prata, no par 11.

10. MALUCELLI, M.I.C.; SAKAUCHI, M.A.; SHIMIZU, Y.; CREPALDI, R.F.; PIETRO, A.S.; PEREIRA, A.; PEREIRA, M.M.M.
Tempo de destoxificação e rendimento de suspensões de *Bordetella pertussis* concentradas por centrifugação e precipitação ácida.
Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo, 23 (2): 65-78, 1987.

Resumo: O tempo de destoxificação, o rendimento do processo de concentração e a potência da vacina Pertussis foram avaliados a partir de cultivos de *Bordetella pertussis* em fermentadores Biolafitte 50L, submetidos a diferentes processos. As suspensões do microorganismo concentradas por centrifugação e destoxificadas pelo calor e tiomersal apresentaram menor tempo de destoxificação quando comparado com outros processos. A concentração por centrifugação foi mais satisfatória que a precipitação ácida, quanto ao rendimento. Em todos os processos a potência foi superior a 8 UI/ml, em conformidade com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS).

Abstract: The time of detoxification, the yield of the concentration process and the potency of the Pertussis vaccine were evaluated from the cultivation of the *Bordetella pertussis* in Biolafitte 50L fermenters subjected to different methods of concentration and detoxification. Suspensions of *Bordetella pertussis* concentrated by centrifugation and detoxifyed by heat and thimerosal presented a shorter time of detoxification when compared with the other methods. The concentration by centrifugation was better than the acid precipitation in relation to the yield. In all methods the potency was not less than 8 UI/ml in accordance to the WHO recommendations.



11. MANCINI, D.A.P.; NASCIMENTO, E.M.M. do; YANO, A.F.B.; TAVARES, V.R. Avaliação da imunogenicidade das cepas A (H_1 N_1), A (H_3 N_2) e B do vírus influenza, componentes da vacina trivalente contra gripe produzida pelo Instituto Butantan.
Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo, 23 (1):1-10, 1987.

Resumo: A resposta imune mediada por anticorpos específicos contra as cepas A/SP/1/77 (H_3N_2), A/SP/1/78 (H_1N_1) e B/Engl./847/73 do vírus influenza foi analisada pelas técnicas de inibição da hemaglutinação (IH) e hemólise radial simples (HRS). Para tanto, utilizou-se soros de indivíduos antes e após a inoculação de duas doses de vacina trivalente inativada contra a gripe, produzida pelo Instituto Butantan, composta das referidas cepas virais. Aumentos significativos de anticorpos ocorreram nos soros dos indivíduos vacinados e através da análise estatística do x^2 (corrigido) e do Coeficiente de Associação de Yule (C. Yule), demonstrou-se a diferença das respostas de anticorpos entre, antes e depois da vacinação dos indivíduos. Para a cepa A/SP/1/77 (H_3N_2) verificou-se a significância de $P << 0,001$ e $P < 0,01$ e C. Yule = 0,83 e 0,70; para a cepa A/SP/1/78 (H_1N_1 a significância foi de $P << 0,001$ e $P < 0,02$ e C. Yule = 0,74 e 0,90 e para a cepa B/Engl./847/73 a significância foi de $P < 0,10$ e $P < 0,01$ e C. Yule = 0,52 e 1,0. Foi observada, ainda, maior sensibilidade no teste de HRS para detecção de anticorpos contra o vírus influenza, principalmente com a cepa do tipo B.

Abstract: The immune response mediated by specific antibodies, against the A/SP/1/77 (H_3N_2), A/SP/1/78 (H_1N_1) and B/Engl/847/73 strains of influenza virus, was evaluated by the Haemagglutination Inhibition (HI) and Single Radial Haemolysis (SRH) techniques, before and after the vaccination of the individuals with two doses of inactivated trivalent antil Influenza vaccine, composed of related strains, and produced in Instituto Butantan (SP, Brazil). Considerable increase of serum antibodies occurred in vaccinated persons and according to the statistic analysis of the x^2 and C. Yule, differences on the antibody response before and after vaccination were demonstrated. In relation to A/SP/1/77 (H_3N_2) strain, it was verified the significance of $P << 0,001$ and $P < 0,05$ and C. Yule = 0,83 and 0,70; to the A/SP/1/78 (H N) strain, the significance was $P << 0,001$ and $P < 0,02$ and C. Yule = 0,74 and 0,50 and to the B/Engl/847/73 strain, it was verified the significance of $P < 0,10$ and $P < 0,02$ and C. Yule = 0,52 and 1,0. The sensitivity of SRH test was observed to be higher than HI test mainly for the detection of antibodies of influenza virus B strain.

12. MUNAÓ DINIZ, L.S.; BELLUOMINI, H.E.; TRAVASSOS FILHO, L.P.; ROCHA, M.B. da. Presence of the ear mite *Otobius megnini* in the external ear canal of lions (*Panthera leo*).
J. Zoo. An. Med. 1B(4):154-155, 1987.

Abstract: Lions (*Panthera leo*) imported from Argentina by the São Paulo Zoo, Brazil, were found to be infested with *Otobius megnini*, a known carrier of rickettsial organisms. This is the first report of infestation with this ear mite in a non domestic feline.

Resumo: Verificou-se que leões (*Panthera leo*) importados da Argentina pelo Zoológico de São Paulo estavam infestados com *Otobius megnini*, um conhecido portador de organismos Rickettsia. Trata-se da primeira comunicação sobre infestação com este ácaro, que se instala na orelha de felinos selvagens.

13. NOVAES, A.P. de; ABE, A.S.; FERNANDES, W. Anestesia em jararaca (*Bothrops jararaca*) com o uso do relaxante muscular triiodoetilato de galamina.
Arq. Biol. Tecnol., 30 (4):635-639, 1987.

Resumo: O triiodoetilato de galamina foi injetado por via intramuscular, intrapericárdica e intraperitonial para a anestesia de jararaca, *Bothrops jararaca*. Foram considerados cinco graus de anestesia, de acordo com os níveis de imobilidade, sendo considerados os 4 e 5 como sendo satisfatórios pois *B. jararaca* é de perigoso manuseio. Os efeitos de uma dada dosagem atua dentro de 13 a 23 minutos, independente da via injetada. A dose intramuscular foi significativamente mais baixa (4,6 ±1,7mg/kg) que as vias intraperitonial (6,8±mg/kg) e intrapericárdica (6,0±mg/kg). E discutida a confiabilidade do uso do triiodoetilato de galamina como anestésico para serpentes.

Abstract: Gallamine triethiodide was injected by intramuscular, intrapericardic, and intraperitonial routes to anesthetize the pit viper, *Bothrops jararaca*. According to the immobility level, five anesthetic degrees were used, the 4th and 5th levels being considered satisfactory, since *B. jararaca* is a dangerous species to handle. The effect of a given dosage develops from 13 to 23 min regardless the injection route. The dosage was significantly lower by intramuscular (4,6 ± 1,7mg/kg) route than peritonial (6,8 ± 0,5mg/kg) and intrapericardic (6,0 ± 0,9 mg/kg) routes. The reliability of gallamine triethiodide as snake anesthetic is discussed.

14. PEREIRA, C.A. & PICKEL, K.
An immunological analysis of natural resistance to mouse hepatitis virus (JHMV strain) infection in C3H mice.
Brazilian J. Med. Biol. Res., 20 : 115-123, 1987.

Abstract: 1. Since the development of resistance against mouse hepatitis virus (JHMV strain) coincides with the maturation of the immune system, we studied the possible role of distinct immunological components in the resistance of adult mice during JHMV infection. 2. Adult C3H mice natu-

rally resistant to JHMV were rendered susceptible to infection by lethal ^{60}Co-irradiation and were subsequently reconstituted with limiting numbers of syngeneic bone marrow cells or spleen cells. 3. Resistance or susceptibility depended on the number of cells used for reconstitution and the interval between reconstitution and infection. Spleen cells from suckling mice affected neither resistance nor susceptibility and peritoneal cells from adult mice and thymus cells reduced resistance. Persistence of JHMV was demonstrated by virus reactivation. 4. Animals infected with JHMV only once before being rendered immunoincompetent showed a different pattern of resistance. One to four months after infection, 15 to 35% of the animals died after reconstitution without having been reinfected, and persisting JHMV was found in their liver, spleen and peritoneal exudate. The survivors (47 to 87%) were resistante to further JHMV infection during immunodeficiency. 5. Animals immunized 3 times with JHMV before irradiation did not show virus reactivation and were fully resistant to JHMV reinfection after reconstitution. The level of neutralizing anti-JHMV serum antibodies in the group of mice immunized only once was comparable with the level of those immunized 3 times. 6. The role of macrophage activation and cell-mediated immunity in this model are discussed as an explanation for the resistance to, and persistence of, JHMV.

Resumo : Camundongos C3H adultos, naturalmente resistentes à infecção por JHMV, após irradiação tornaram-se suscetíveis e foram utilizados para o estudo de populações celulares responsáveis pela resistência orgânica. Ouando os animais eram infectados antes da irradiação e reconstituídos com diferentes populações celulares, ocorreu a reativação do vírus e demonstração da infecção persistente.

15. PEREIRA, C.A.; STEFFAN, A.M.; KOEHREN, F.; DOUGLAS C.R.; KIRN, A.
Increased susceptibility of mice to MHV3 infection induced by hypercholesterolemic diet: impairment of Kupffer cell function.
Immunobiol., *174:* 253-265, 1987.

Abstract: Nutritionally induced hypercholesterolemia in A/J mice causes susceptibility to Mouse Hepatitis type 3 (MHV 3), whereas normal A/J mice are fully resistant. A/J mice fed with a hypercholesterolemic diet for 15 to 60 days develop 5 to 7 days after MHV 3 infection an acute hepatitis which led to high levels of mortality. A direct relationship was found between the high levels of plasma and hepatic cholesterol and the mortality. In attempting to define the dietary-induced physiological changes which led to the loss of resistance, the Kupffer cells were shown to exhibit an impairment of functions in their ability to become activated by LPS in order to take up C3-coated IgM opsonized sheep red blood cells, C3(IgM)SRBC, or ^{3}H-thymidine *Escherichia coli*, and the susceptibility to interferon (IFN) for the induction of an antiviral state. Peritoneal macrophages which were studied in comparison with the Kupffer cells showed no impaired functions. The findings presented here indicate an inhibition of host resistance, by nutritional hypercholesterolemia, of A/J mice to MHV 3 infection and that, at least one site of impairment occurs specifically at the stage of Kupffer cells function.

Resumo: Hipercolesterolemia nutricional induziu perda da resistência orgânica de camundongos ao MHV3. Na tentativa de se encontrar a modificação fisiológica responsável pela perda de resistência, verificamos que as funções das células de Kupffer tais como: fagocitose e sensibilidade ao interferon estavam diminuidas.

16. RIBEIRO, L.R.; RABELLO-GAY, M.N.; SALVADORI, D.M.F.: PEREIRA, C.A.B.; BEÇAK, W.
Cytogenetic effects of inhaled ethylene oxide in somatic and germ cells of mice.
Arch. Toxicol., 59: 332-335, 19B7.

Abstract: The induction of cytogenetic effects by inhalation of ethylene oxide was tested in bone marrow cells and primary spermatocytes at diakinesis-metaphase, I cells from mouse after a single treatment (6 h/1 day) at 0,200, 400 and 600 ppm, and multiple treatment (6 h/5 days/2 weeks) at 0,200 and 400 ppm. Ethylene oxide inducede, chromosomal aberrations in both somatic as well as in germ cell of mice.
In the single treatment the response observed for germ cells was not equivalent to that observed for somatic cells. In the latter there was a greater sensibility for bone marrow cells. With multiple treatment the effects on the chromosomes were equivalent in somatic and in germ cells.

Resumo: A indução de efeitos citogenéticos, por inalação de óxido de etileno, foi testada em células de medula óssea e espermatócitos primários, em células em diacinese-metáfase I de camundongo, após tratamento simples (6 h/1 dia) com 0, 200, 400 e 600 ppm, e tratamento múltiplo (6 h/5 dias/2 semanas) com 0, 200 e 400 ppm. O óxido de etileno induziu aberrações cromossômicas em ambas, células somáticas assim como em células germinativas de camundongo.
No tratamento simples a resposta observada para células germinativas não foi equivalente ao observado para as células somáticas. Nas últimas ocorreu maior sensibilidade nas células da medula óssea. Com tratamento múltiplo os efeitos nos cromossomos eram equivalentes, em células somáticas e germinativas.

17. RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; PEREIRA, C.A.B.; BEÇAK, W.
Activity of ethylene oxide in the mouse sperm morphology test.
Arch. Toxicol., *60:* 331-333, 1987.

Abstract: Inhaled ethylene oxide induced an increased frequency of abnormal sperm cells in mice

when the animals were treated at 200 and 400 ppm (6 h per day; 5 days) in three stages of cell development: spermatozoa, spermatid and preleptotene spermatogonial cells. These results suggest that sperm head morphology changes can be induced by interference of ethylene oxide with spermatogenesis, which, depending on the stage of the treated germ cells, may be correlated with the mutagenic potential of this chemical agent.

Resumo: Óxido de etileno, inalado, induziu um aumento de freqüência de células espermáticas anômalas em camundongos, quando os animais eram tratados com 200, 400 ppm (6 h por dia; 5 dias) em três estágios do desenvolvimento celular: espermatozóide, espermátide e células espermatogoniais em preleptoteno. Esses resultados sugerem que as modificações na morfologia da cabeça do espermatozóide podem ser induzidas por interferência do óxido de etileno com a espermatogênese, que, dependendo do estágio das células germinativas tratadas, podem ser correlacionadas com o potencial mutagênico do agente químico.

18. SALOMÃO, M. da G.; MIMURA, O.M.; SAWAYA, P.
Fisioecologia de poecilídeos (*Poecilia reticulata* e *Phalloceros caudimaculatus*). Influência da salinidade.
Bol. Fisiol. anim., São Paulo, *11:* 73-93, 1987.

Resumo: Deu-se ênfase à determinação da tolerância de *P. reticulata* e de *P. caudimaculatus* às variações de salinidade; verificou-se a influência da salinidade sobre o desenvolvimento de ambas as espécies, bem como aferiu-se a aplicabilidade das expressões matemáticas propostas pela metodologia usualmente empregada em peixes, no estudo de aspectos quantitativos do desenvolvimento nas condições de laboratório. *P. caudimaculatus* é menos tolerante à salinidade do que *P. reticulata.* Quanto aos efeitos da variação de salinidade sobre o desenvolvimento, as observações indicaram um crescimento mais acentuado dos alevinos de *P. reticulata* quando foram transferidos para água do mar S = 8‰ e as fêmeas grávidas permaneceram em água doce. O inverso foi registrado para *P. caudimaculatus*, cujos alevinos apresentaram crescimento mais acentuado em água doce quando a fêmea tinha sido aclimada em água doce.
Os parâmetros relacionados com o crescimento em comprimento (L, k e t) relação peso/comprimento (ϕ e θ) e crescimento em peso foram estimados, sendo que os resultados obtidos mostraram que as expressões matemáticas utilizadas são adequadas para descrever quantitativamente o desenvolvimento de *P. caudimaculatus* e o de *P. reticulata* em todas as condições experimentais.
O aumento da salinidade acelera o aparecimento dos caracteres sexuais secundários em *P. reticulata.*"

Abstract: The present study aims to determine the tolerance of the poecilid fish *Poecilia reticulata* and *Phalloceros caudimaculatus* to salinity variations and to verify the influence of this environmental parameter on development of the species as well as to examine the applicability of certain mathematical expressions frequently employed in quantitative studies of development under laboratory conditions.

The results showed that *P. caudimaculatus* is less tolerant to salinity variation than *P. reticulata* and that the initial growth is higher in *P. reticulata* when the alevins derived from females maintained in freshwater were transfered to seawater of 8‰. The opposite was found in *P. caudimaculatus* where alevins showed increased initial growth in freswater, when the gravid female was held in freshwater.

The growth parameters estimated from lenght (L, k and t) and weight, and the relationship between weight and length (ϕ and θ) were obtained. The results showed that the mathematical expressions utilized describe adequately the development in the two species under the experimental conditions employed.
Salinity decreases the times of appearance of the secondary sexual characteristics in *P. reticulata.*

19. SOARES, M.F.M; MACEDO, M.S.; MOTA, I.
Suppressive offect of an *Ascaris suum* extract on IgE and IgG antibody response in mice.
Brazilian J. Med. Biol. Res., *20:* 203-211, 1987.

Abstract: 1. A suppressed cytotropic and agglutinating antibody response against ovalbumin was induced in mice immunized with this antigen and an *Ascaris suum* extract. 2. Suppression of IgE antibody production was abolished by administration of cyclophosphamide or X-irradiation before immunization. In contrast, suppression of homocytotropic IgG1 and heterocytotropic IgG2a antibody responses was considerably resistant to the same treatments. 3. The low levels of IgG agglutinating antibodies also remained unchanged after these treatments. 4. These results indicate that distinct regulatory mechanisms are the targets of suppression induced by *A. suum* extract in IgE and IgG responses.

Resumo: 1. Camundongos imunizados com ovalbumina e extrato de *Ascaris suum* apresentam uma acentuada supressão da resposta de anticorpos citotrópicos e aglutinantes anti-ovalbumina. 2. A supressão da resposta de anticorpos da classe IgE foi abolida pela administração de ciclofosfamida ou baixas doses de irradiação antes da imunização. Entretanto, a supressão da resposta de anticorpos das classes IgGI e IgG2 foi consideravelmente resistente aos mesmos tratamentos. 3. A produção de anticorpos mercaptoetanol-resistentes também não foi afetada por estes tratamentos. 4. Estes resultados indicam que mecanismos regulatórios distintos são responsáveis pela supressão induzida pelo extrato de *A. suum* nas respostas de anticorpos das classes IgE e IgG.

20. TUFIK, S.; TRONCONE, L.R.P.; BRAZ, S.; SILVA-FILHO, A.R.; NEUMANN, B.G.
Does REM sleep deprivation induce subsensitivity of presynaptic dopamine or postsynaptic acetylcholine receptors in the rat brain?
Europ. J. Pharmacol., *140*:215-219, 1987.

Abstract: Yawning behavior was used to evaluate the sensitivity of presynaptic dopamine receptors and postsynaptic acetylcholine receptors of normal and REM sleep-deprived (REMSD) rats. The results show a lowering of the dose-response curve obtained with apomorphine and pilocarpine, as well as a shift to the right in the curve obtained with physostigmine. These results suggest that REMSD induces subsensitization of presynaptic dopamine receptors and/or postsynaptic acetylcholine receptors with different characteristics related to the mechanism of action of the cholinomimetic agent employed.

Resumo: Empregou-se o comportamento de bocejo para avaliar a sensibilidade de receptores dopaminérgicos pré-sinápticos e receptores colinérgicos pós-sinápticos do sistema nervoso central de ratos normais e privados de sono REM (PSREM). Os resultados mostram uma redução das curvas dose resposta obtidas com apomorfina e pilocarpina, assim como um deslocamento para a direita, na curva obtida com fisostigmina. Estes resultados sugerem que a PSREM induz uma subsensibilização dos receptores dopaminérgicos pré-sinápticos e/ou receptores colinérgicos pós-sinápticos, com características relacionadas ao mecanismo de ação do agente colinomimético empregado.



Mem. Inst. Butantan
50(3):111-115, 1988

COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN (1978-1986)*

BIASI, P. de; RIZZO, E. de; ARTIGAS, P. de T.; BALDERRAMA, O.K.A.; CARDOSO JR., R.P.
"In vitro" development of *Trypanosoma butantanense* Arantes and Fonseca, 1931.
Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 23 (2):41-47, 1981.

Abstract : The Authors studied the "in vitro" maintenance of the flagellate *Trypanosoma butantanense* isolated from a specimen of *Waglerophis merremii* (Serpentes, Colubridae). For the passages, Eagle and L.I.T. media were enriched whit (i) whole blood, (ii) plasma, or (iii) snake red blood cells. Best results were obtained with media supplemented with whole blood, red blood cells proving better than plasma. For the *in vivo* transmission, inocula of infected blood diluted in Eagle proved the most efficacious. *W. merremii*, as well as young *Crotalus durissus terrificus* showed high susceptibility to *T. butantanense*, while young *Bothrops alternatus* were less susceptible. The Authors suspect a possible biological resistance in adult *C. d. terrificus*. Transmission of *T. butantanense* both by oral route or throught the leech *Haementeria gracilis* (Hirudinae) was negative.

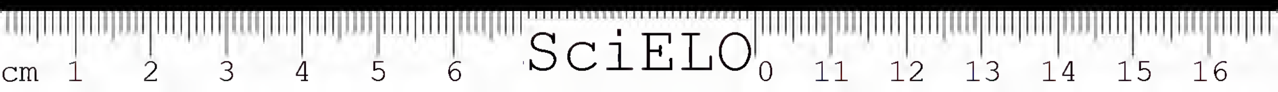
Key words: *Trypanosoma butantanense*. Trypanosoma transmission. Trypanosome culture.

Resumo : Os autores estudaram a manutenção "in vitro" do flagelado *Trypanosoma butantanense*, isolado de espécime de *Waglerophis merremii* (serpente, Colubridae). Para a realização das passagens, os meios L.I.T. e Eagle foram suplementados com (i) sangue total, (ii) plasma (iii) hemácias de serpentes. Os melhores resultados foram obtidos com meios enriquecidos com sangue total, sendo as hemácias mais eficientes do que o plasma. Para a transmissão "in vitro" o sangue infectado, diluído em meio Eagle, foi o mais efetivo; *W. merremii*, assim como filhotes de *Crotalus durissus terrificus*, apresentaram maior suscetibilidade ao *T. butantanense*, ao passo que os filhotes de *Bothrops alternatus* foram menos suscetíveis. Os Autores suspeitam de uma possível resistência biológica dos *C. d. terrificus* adultos ao flagelado. Não foi possível transmitir o *T. butantanense* por via oral ou através de sanguessuga *Haementeria gracilis* (Hirundinea).

MARTINS, M.T.; SOARES, L.A.; MOLINA, A.G.; RIZZO, E. de.
Sensibilidade de diferentes linhagens celulares na detecção de enterovirus humanos presentes em águas.
Rev. Microbiol., São Paulo, *13*(2):166-172, 1982.

Resumo : Duas linhagens celulares de origem símia (LLC-MK_2 e BS-C-1) e duas de origem humana (HeLa e HEp_2-C) foram testadas quanto à sensibilidade a enterovírus humanos. Culturas celulares da mesma linhagem, a LLC-MK_2, obtidas de dois laboratórios diferentes, quando cultivadas sob as mesmas condições, mostraram diferenças quanto à sensibilidade a enterovirus isolados de esgoto. Células HeLa, inoculadas com poliovirus tipo II-MEF, apresentaram efeito citopático, quando cultivadas em meio líquido; porém mostraram-se inadequadas para a formação de placas (UFP), quando cultivadas sob meio gelificado. Quando poliovirus tipo I-Mahoney, adicionado a água tratada e de manancial, posteriormente submetidas à concentração, foi inoculado paralelamente, em células BS-C-1 e LLC-MK_2, as primeiras se mostraram mais sensíveis para a recuperação desse virus. Com

* Trabalhos que não constaram do V.49(3):97-141, 1987.



linhagens de células de rim de macaco foram obtidos melhores índices de recuperação de virus do que com linhagens de origem humana, tendo a BS-C-1 apresentado os melhores índices de plaqueamento e podendo, pois, ser considerada como linhagem ideal, dentre aquelas empregadas no estudo.

Abstract: Cell lines of simian origin (LLC-MK_2 and BS-C-1) and two human cell lines (HeLa and Hp_2-C) had their sensitivity tested for the detection of enteroviruses. Cell cultures of the LLC-MK_2 line, obtained from two different laboratories, differed in their relative sensitivity to enteroviruses isolated from sewage when cultivated under the same conditions. HeLa cells infected with type II-MEF-poliovirus showed a cytopathic effect when cultivated in fluid medium, but failed to produce plaques (PFU) under agar overlay. When type I-Mahoney poliovirus, added to treated water and wastewater and later recovered by concentration, was inoculated into BS-C-1 and LLC-MK_2 lines, the former were found to be more susceptible for virus recovery. Higher recovery rates were reached with lines of simian origin (monkey kidney cells) than with cell lines of human origin; the BS-C-1 line gave the best response to viral replication, being considered the cell line of election in this study.

OLIVEIRA, B.; MARANGONI, S.; ARAÚJO, A.L.; SOARES, M.A.
Evidence of IgGI and IgG2 antibodies in capivara (*Hydrochoerus hidrochaeris*, Linnaeus 1766)
Cell. Mol. Biol., *31* (2):125-130, 1985.

Abstrac: Two antibody populations present in immunized capivara serum have been described. They show a slow and fast mobility towards the anode in agar gel immunoelectrophoresis and are easily separated in DEAE-cellulose chromatography. In Sephadex gel filtration these two globulins as compared to a human myeloma IgG1 protein and other IgG markers had a typical behaviour of 7S IgG immunoglobulins. Their specificity was confirmed by affinity chromatography and reactivity of the antibodies eluted was checked by immunodifusion against the antigen in agar gel plates. In Ouchterlony analysis an antiserum specific to human IgG γ-chains showed a cross-reaction with both slow and fast mobility capivara immunoglobulin populations. These findings suggest a fast 7S IgG1 and a slow 7S IgG2 immunoglobulin system in capivara immune serum.

Resumo: São descritas duas populações de anticorpos no soro de capivaras imunizadas. Mostram uma mobilidade respectivamente lenta e rápida em direção ao ânodo, em imunoeletroforese em gel de agar, e são facilmente separadas por cromatografia em DEAE celulose. Essas duas globulinas, quando comparadas por filtração em gel de sephadex, com uma proteína IgG1 de mieloma humano e outros marcadores IgG, apresentaram um comportamento típico de imunoglobulinas IgG 7S. As respectivas especificidades foram confirmadas por cromatografia de afinidade e a reatividade dos anticorpos eluídos, confirmada por imunodifusão contra o antígeno, em placas de gel de agar. Em análise de Ouchterlony, um anti-soro específico para cadeias pesadas de IgG humana mostrou uma reação cruzada com ambas as populações, a lenta e a rápida, de imunoglobulinas de capivara. Estes resultados sugerem a existência de uma imunoglobulina rápida IgG1-7S e uma lenta IgG2-7S, no soro do sistema imunitário da capivara.

PRAL, M.M.; WOE FANG, F.L.; RIZZO, E. de.
Potency control of live, attenuated vaccines against measles used children vaccinations in the State of São Paulo, Brazil (1976-1980).
Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 24 (1): 1-5. 1982.

Abstract: Through the inoculation of serial dilutions of reconstituted live attenuated vaccines against measles in culture of Vero cells, 161 different lots of vaccines imported from England, France and Belgium for the vaccination of infants of the State of São Paulo, Brazil, were titrated for potency. In the conditions of the test, titer failures of 20.0, 11.5 and 25.0% were observed among the tested vaccine lots imported from England, France and Belgium, respectively. None of the 72 lots imported from France as bulk and freeze-dried in Brazil has been impugnated due to lack of titer.

Resumo: Pela inoculação de diluições seriadas da vacina viva, atenuada, contra o sarampo, em culturas de células Vero, foram titulados, para controle de potência, 161 lotes de vacinas importadas da Inglaterra, França e Bélgica, destinadas à vacinação da população infantil do Estado de São Paulo. Nas condições do teste, 20,0, 11,5 e 25,0% dos lotes de vacina testadas, importadas da Inglaterra, França e Bélgica, respectivamente, não apresentaram o título mínimo exigido; dentre os 72 lotes importados da França e liofilizados no Brasil, não ocorreram impugnações devidas à insuficiência de título.

RIZZO, E. de; CARDOZO, B.S.; LASCALLA, D.F.; TUCHIYA, H.N.; MENDES, I.F.
The jet infection apparatus (Ped-O-Jet) for use in mass vaccination against measles. An effective procedure for its disinfection.
Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 24 (5): 263-267, 1982.

Abstract: A procedure was investigated for the decontamination of the jet injection apparatus (Ped-O Jet) used in mass vaccination against measles, with a germicide (brand name Germekil), used as

is, and with the purpose of avoiding the inactivation of the virus present in the vaccine, diluted at 1:50 and 1:100. It was shown that employing 10 water rinsings, traces of the disinfectant still present were able to inactivate the virus particles up to the 8th dose dispensed, whereas 20 rinsings thoroughly eliminated the chemical, preventing viral inactivation. According to our studies, the disinfection of Ped-O-Jets should be carried out as follows:

1) Calibrate the injector for its full volume (1 ml) and fill it up with Germekil (1:50 or 1:100) for four consecutive times; 2) Allow the chemical of the 5th aspiration to remain in contact with the inner parts for at least 20 min; 3) Rinse the injector by 20 aspirations of sterile distilled water; 4) Recalibrate the Ped-O-Jet to 0.5 ml and adapt the vial of reconstitute vaccine to it; 5) Start administering the doses.

Resumo: Padronizou-se um processo para a desinfecção de rotina do aparelho injetor (Ped-O-Jet) empregado nas vacinações em massa contra o sarampo, com vacina viva atenuada. Foi estudado o desinfetante de nome comercial Germekil, usado em sua concentração original e também diluído a 1:50 e a 1:100, com o objetivo de prevenir a inativação das partículas de vírus presentes na vacina, devida a traços residuais do germicida nas partes internas do aparelho, se a lavagem se processar com volume insuficiente de água destilada estéril. Ficou demonstrado que 10 enxágües sucessivos com água não são suficientes para eliminar o desinfetante: há inativação das partículas virais da 1.ª a 8.ª dose, apenas a 9.ª e 10.° doses satisfazendo ao limite mínimo de potência. Verificou-se, entretanto, que 20 enxágües sucessivos eliminam o risco de inativação do vírus pelo desinfetante. Com base nos estudos desenvolvidos, sugere-se o seguinte procedimento para a desinfecção de Ped-O-Jet: 1) Calibrar o aparelho para sua capacidade máxima (1ml) e aspirar com ele o desinfetante (diluído a 1:50 ou a 1:100) por quatro vezes consecutivas; 2) Deixar o desinfetante da 5.ª aspiração permanecer em contacto com as partes internas por, no mínimo, 20 minutos; 3) Lavar o injetor com 20 enxágües de água destilada estéril; 4) Recalibrar o Ped-O-Jet para 0,5ml e adaptar a ele o frasco de vacina reconstituída; 5) Iniciar a administração das doses.

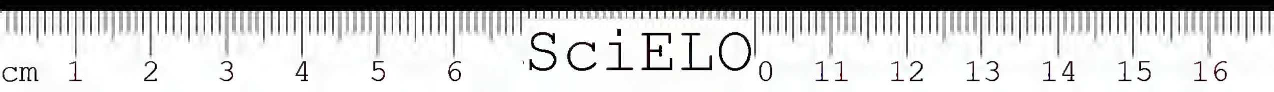
RIZZO, E. de; WOE FANG, F.L.; GALLINA, N.M.F.; TAKATA, C.S.; MIYAKI, C.; PLUCIENNIK, A.M.A.; SATO, A.; PRAL, M.M.; PRAL, E.M.F.; MENDES, I.F.
Seringas hipodérmicas descartáveis versus reutilizáveis. Estudo de possíveis efeitos sobre o vírus da vacina viva, atenuada contra o sarampo.
Rev. Saúde públ., S. Paulo, *20*(6): 475-80, 1986.

Resumo: Objetivou-se verificar entre seringas hipodérmicas descartáveis e reutilizáveis qual interfere mais com o vírus vivo presente na vacina contra o sarampo. Vacinas pertencentes a dois lotes foram reconstituídas com os dois tipos de seringas, de modo a formarem dois pools distintos, mantidos à temperatura de +2 a +8°C e protegidos da luz. De cada lote foram realizadas, no mínimo, seis titulações em paralelo, com amostragem a cada hora, de zero a seis horas após reconstituição. A análise estatística dos resultados obtidos nas titulações, feita pelo sistema de retas de regressão, demonstrou que embora as vacinas manipuladas com ambos os tipos de seringas apresentassem um decréscimo de título estatisticamente significativo com o decorrer das horas, ele foi bem mais acentuado para as vacinas reconstituídas com seringas reutilizáveis. A menor interferência das descartáveis no título da vacina viva, atenuada contra o sarampo, demonstrou que a preconização e uso desse tipo de seringas pela Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo é o ideal e recomendável, por preservar mais a vacina desde a reconstituição até sua administração e, conseqüentemente, a sua eficácia na prevenção dessa infecção.

Abstract: The study was performed in the State of S. Paulo, SP, Brazil, with the purpose of finding out whether reusable (glass) and disposable hypodermic syringes used for administration of live attenuated measles vaccines would interfere with their virus. At least six different experiments using two distinct lots of vaccines were carried out. Each time, a lot was reconstituted with reusable and disposable syringes in parallel to form separate pools from which samples were collected hourly from zero to the sixtieth hour after reconstitution for virus titration in monolayers of Vero cells. The straight line regression system chosen for the analysis of the results demonstrated that although vaccines reconstituted with both types of syringes presented a statistically significative titer decrease as time went by, there was a more pronounced decrease for vaccines manipulated with the glass syringes. The fact that the disposable syringes affected the titer of the virus present in the live, attenuated measles vaccine less confirmed that the preconization and routine usage of this type of syringe by the Health Department of the State of S. Paulo, Brazil, is ideal and highly recommended because it preserves the vaccine from reconstitution to administration better, and thus, its efficacy in preventing the infection.

TUCHIYA, H.N.; MENDES, I.F.; MIYAKI, C.; RIZZO, E. de.
Study on the growth promotion capacity of calf serum for animal cells in vitro. I. Test of 56 lots of calf serum against several cell lines and primary cell cultures.
Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 22(6): 281-285, 1980.

Abstract: Fifty-six different lots of calf serum were tested against eleven cell lines and two types of primary cell cultures in order to establish their efficiency in promoting cell multiplication and thus, the viability of their use in the routine serial propagation of animal cells in vitro. The study demonstrated that the efficiency of the sera tested varied from lot to lot. Sera rated "fair" or "poor" were unable to support the serial propagation of the majority of the cell lines for long periods of time although efficient for the multiplication of primary cells. Certain cell lines were more demanding in re-



lation to the sera used. Even when a serum rated "good" was employed to supplement culture media, it was observed that certain cell lines could not be kept in active multiplication, which indicates that a great variability of nutritional needs prevails among cell lines.

Resumo: Cinqüenta e seis lotes de soros de vitelo foram testados contra 11 linhagens celulares e a dois tipos de culturas de células primárias, com o objetivo de estabelecer sua eficiência na multiplicação celular e assim a viabilidade do seu uso na manutenção de rotina de células animais, in vitro. O estudo demonstrou que a eficiência dos soros testados variou de lote para lote. Soros considerados "regulares" ou "pobres" foram incapazes de manter a propagação em série da maioria das linhagens celulares por períodos longos de tempo, embora se mostrassem eficientes na multiplicação de células primárias. Certas linhagens foram mais exigentes do que outras em relação ao soro usado. Mesmo quando soros considerados "bons" foram empregados para suplementar meios de cultura que se observou, certas linhagens celulares não puderam ser mantidas em multiplicação ativa, indicando que, entre elas, predomina grande variabilidade quanto às necessidades nutritivas.

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX





MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO BUTANTAN

VOLUME 50

1988

Mem. Inst. Butantan	V. 50	n.1-3	p.1-115	1988

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

CONTEÚDO/CONTENTS
VOLUME 50, 1988
N.º 1

N.º 2

N.º 3

SUPLEMENTO

INTERNATIONAL SYMPOSIUM SYNTHETIC AND GENETIC ENGINEERING VACCINES

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1. Somente serão aceitos trabalhos inéditos e que se destinem exclusivamente à revista. É proibida a reprodução com fins lucrativos. Os artigos de revisão serão publicados a convite da Comissão Editorial.
2. Os trabalhos deverão ser redigidos em português, inglês ou francês, datilografados preferencialmente em máquina elétrica, em espaço duplo em 3 (três) vias, em papel formato ofício e numerados no ângulo superior direito.
3. No preparo do original será observada, sempre que possível, a seguinte estrutura: Página de rosto: título do artigo, nome(s) do(s) autor(es) e filiação científica. Texto: introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos (antes da referência bibliográfica). Material de referência: resumos (em português e inglês); palavras-chave (palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo; devem ser incluídas até um limite máximo de três, em português e inglês); Referências bibliográficas.
4. As referências bibliográficas deverão ser ordenadas alfabeticamente e numeradas.
   Exemplos:
   Para livros: autor, título, edição, local de publicação, editor, ano, páginas.
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Para artigos: autor, título do artigo, título do periódico, volume, página inicial e final, ano.
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.°, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. Mem. Inst. Butantan, 40/41: 1-9, 1976/77.
   As citações no texto devem ser por números-índices correspondentes às respectivas referências bibliográficas.
   Exemplos:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. As ilustrações (fotos, tabelas, gráficos etc.) deverão ser originais e acompanhadas de legendas explicativas. As legendas serão numeradas e reunidas em folha a parte. Os desenhos deverão ser a nanquim e as fotografias bem nítidas, trazendo no verso o nome do autor e a indicação numérica da ordem a ser obedecida no texto. As ilustrações deverão ser organizadas de modo a permitirem sua reprodução dentro de uma página normal da revista (22 x 12,5cm).
6. Os artigos deverão conter no máximo 6 (seis) ilustrações (branco e preto). De cada trabalho serão impressas 50 (cinqüenta) separatas, sendo 10 para a Biblioteca do Instituto e 40 para os autores.
7. Os textos originais não serão devolvidos e os originais das ilustrações estarão à disposição dos autores.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. Manuscripts submitted to the Editorial Board should be unpublished texts and should not be under consideration for publication elsewhere. Reproduction for commercial purposes is not allowed. The Editorial Board will plan the publication of revision articles.
2. The original and two copies of papers should be typewritten in Portuguese, English or French, double spaced, on typing paper (31 x 21cm). Pages should be numbered consecutively at the upper right corner.
3. The following structure should be considered in the preparation of the manuscript: Title page: with article title, name of author(s), professional address. Text: with introduction, material and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments, references, summary (in Portuguese and English), and key-words. A maximal number of 03 key-words should be included in Portuguese and English.
4. References in alphabetical order should be numbered consecutively.
   Examples:
   Books
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Articles
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.°, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. Mem. Inst. Butantan, 40/41: 1-9, 1976/77.
   Citations in the text should be identified by the reference number.
   Examples:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. Illustrations (photographs, tables, figures etc.) should be the originals and legends should be submitted typewritten on a separate sheet. Line-drawings should be with China ink and photographs must be of top quality. On the back of each figure or photograph the name of the author(s) should be lighly written and the number indicating the sequence in the text. Illustrations should fit in a page measuring 22 x 12,5cm.
6. No more than 6 illustrations will be accepted and photographs should be black and white. Fifty reprints of each article are provided without charge, and 10 will be kept at the library.
7. Submitted manuscripts will not be returned to the author(s) but the original illustrations are available to author(s) by request.

073 – 9901



IMPRENSA OFICIAL
DO ESTADO S.A. IMESP
SÃO PAULO — BRASIL
1989

